

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
DES BLUTLYMPHOZYTENUMSATZES
BEI ZWEI PATIENTEN MIT
CHRONISCHER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE
NACH UNTERSCHIEDLICHEN
THERAPEUTISCHEN MASSNAHMEN

Hans Zöllner

1976

Aus der I. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses München - Schwabing
Chefarzt: Prof. Dr. H. Begemann

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DES BLUT-
LYMPHOZYTENUMSATZES BEI ZWEI PATIENTEN MIT
CHRONISCHER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE NACH UN-
TERSCHIEDLICHEN THERAPEUTISCHEN MASSNAHMEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans Zöllner

aus

München

München

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der

Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Begemann

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.7.1976



INHALTSÜBERSICHT

EINLEITUNG	S. 1 - 2
PATIENTEN UND METHODE	S. 3 - 11
1. Patienten	
2. Markierungsverfahren und Auswertung	
ERGEBNISSE	S.12 - 22
1. Einleitung	S.12 - 14
2. Ergebnisse der <i>i n v i t r o</i> - M a r - k i e r u n g von Blutlymphozyten	S.14
3. Ergebnisse der <i>i n v i v o</i> - M a r - k i e r u n g	S.14 - 22
3.1. Begriffsbestimmung	
3.2. Verlauf der Markierungsindices Patient MS _{II} und AR _{II} Patient MS _{III}	
3.3. Verlauf der Markierungsintensitäten	
DISKUSSION	S.23 - 46
L y m p h o z y t e n u m s a t z	S.26 - 35
1. Begriffsbestimmung	
2. Berechnung und Diskussion umsatzkine- tischer Parameter	
V e r g l e i c h d e r N e u b i l - d u n g s r a t e n	S.36 - 40
G e s a m t b e u r t e i l u n g u n d A n a l y s e	S.41 - 46
ANHANG	S.47 - 55
ZUSAMMENFASSUNG	S.56 - 58
LITERATURVERZEICHNIS	S.59 - 63

Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG

Die chronische lymphatische Leukämie oder chronische Lymphadenose ist morphologisch durch das vermehrte Auftreten überwiegend kleiner reifer Lymphozyten im Blut, im Knochenmark, in den lymphatischen Organen und in anderen Geweben gekennzeichnet (7). Wird die Umsatzkinetik dieser Zellen mittels geeigneter Methoden untersucht, wie dies durch THEML et al. (30) bei zwei Patienten mit Hilfe einer Dauerinfusion von ^3H -Thymidin und nachfolgender Autoradiographie geschehen ist, so kann zwar ein vermehrter Einstrom neugebildeter Lymphozyten ins Blut festgestellt werden, gleichzeitig ist jedoch die relative Neubildungsrate sowohl im Blut als auch in den lymphatischen Organen gegenüber dem Normalen vermindert. Bei den in großer Menge auftretenden leukämischen Zellen scheint es sich also nicht um proliferierende "Tumorzellen" zu handeln, vielmehr muß eine Ansammlung von Ruhezellen mit sehr langer Lebensdauer vermutet werden.

Dieser Befund einer verlängerten Lebensdauer leukämischer Lymphozyten steht in engem Zusammenhang mit einer gestörten Emigrationsfähigkeit dieser Zellen aus dem Blut, wie sie von anderen Autoren festgestellt werden konnte (12), und mündet in ein pathogenetisches Konzept, das die zunehmende Lymphozytose bei der chronischen lymphatischen Leukämie als Akkumulation funktionell minderwertiger Lymphozyten erscheinen läßt (1, 2, 13).

Eine konkrete Auswirkung dieses Konzepts stellt die zunehmende Bedeutung lymphozytendepletierender Therapien (4, 5, 6), unter denen der extrakorporalen Bestrahlung des Blutes (ECIB) wiederum die wichtigste Rolle zukommt, dar. Als therapeutische Frühmaßnahme ist die extrakorporale Blutbestrahlung heute zumindest gleichberechtigt

neben die klassische Cytostaticatherapie zu stellen, die durch ihre proliferationshemmende Wirkung eine relativ unspezifische Behandlungsmethode darstellt.

Obwohl beide Therapieformen sehr häufig verwendet werden, ist ihre Auswirkung auf den Lymphozytenumsatz bei der chronischen lymphatischen Leukämie bisher nicht untersucht worden.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb versucht werden, die Reaktion eines therapeutisch gestörten entarteten Zellsystems aus umsatzkinetischer Sicht aufzuzeigen und darüberhinaus einen Vergleich dieser Reaktionen nach unterschiedlichen Therapieformen zu ermöglichen. Zu diesem Zweck wurde bei den beiden von THEML et al. (30) untersuchten Patienten, von denen einer mit Cytostatica, Cortison und Milzbestrahlung behandelt und der andere einer extrakorporalen Bestrahlung des Blutes unterzogen wurde, eine erneute Untersuchung des Lymphozytenumsatzes nach Therapie durchgeführt. Bei einem der Patienten, bei dem die zweite Untersuchung unmittelbar nach Therapie erfolgte, haben wir noch eine weitere Umsatzbestimmung neun Monate später im "Rezidiv" angeschlossen. Dieser Ansatz schien uns geeignet, über die Momentaufnahme einer umsatzkinetischen Darstellung bei voll ausgeprägtem Krankheitsbild hinaus, Entwicklungen aufzuzeigen und therapieabhängige oder therapieunabhängige Veränderungen des Zellumsatzes zu erfassen.

PATIENTEN UND METHODE

1. Patienten:

Die vorliegenden umsatzkinetischen Untersuchungen erfolgten bei zwei älteren männlichen Patienten mit typischer chronischer lymphatischer Leukämie im Anschluß an eine extrakorporale Bestrahlung des Blutes bzw. eine kombinierte Cytostatica-Cortison-Therapie und Bestrahlung der Milz. Beide Patienten gaben erneut ihre Einwilligung, nachdem bereits unmittelbar vor Therapie eine Untersuchung ihres Lymphozytenumsatzes von THEML et al. (30) durchgeführt worden war. Alle Versuche fanden unter der Überwachung eines Strahlenschutzbeauftragten statt.

Patient MS:

Der Patient war zum Zeitpunkt der ersten Umsatzbestimmung 64 Jahre alt, etwa zweieinhalb Jahre vorher war an Hand einer zunehmenden Lymphozytose die Verdachtsdiagnose chronische lymphatische Leukämie erhoben und durch Lymphknotenexstirpation und Knochenmarkspunktion gesichert worden. Anamnestisch waren vor Diagnosestellung Leistungsminderung, Abgeschlagenheit und Schweißneigung, sowie der Befund einer Lymphozytose von ca. 12 000/ μ l anläßlich einer Cholecystektomie vor dreieinhalb Jahren aufgefallen. In den zweieinhalb Jahren nach Diagnosestellung traten eine progrediente Vergrößerung der Milz und einzelner Lymphknotengruppen auf, die periphere Lymphozytenzahl stieg auf 120 000/ μ l. Eine zunehmende Verschlechterung des Allgemeinbefindens und eine beginnende Blutungsneigung zwangen zum Einsatz gezielter Maßnahmen. Nach Anlegen eines Ciminoshunts wurde deshalb eine extrakorporale Bestrahlung des Blutes über 41 Tage mit 17 Sitzungen à 450 rad durchgeführt. Wäh-

rend der stationären Vorbereitung zur Blutbestrahlung wurde die erste umsatzkinetische Untersuchung vorgenommen. Gleichzeitig wurde folgender hämatologische Status erhoben:

L a b o r w e r t e :

Hb 13,0 g%, Erythrozyten 4,49 Mio/ μ l, Hb_E 29,0 pg
Leukozyten 130 000/ μ l

Differentialblutbild:

Lymphozyten	92,4 % = 120 000/ μ l
Monozyten	0,9 %
eosinophile Granulozyten	1,5 %
segmentk. neutroph. Granulozyten	4,4 %
stabk. neutroph. Granulozyten	0,8 %

Thrombozyten 75 000/ μ l

Retikulozyten 40 %

Elektrophorese: Gesamteiweiß 8,1 g%
55/ 2,9/ 5,2/ 7,5/ 27,7

Immunelektrophorese: IgG und IgM leicht vermehrt,
kein Hinweis auf Paraproteinämie

K n o c h e n m a r k s a u s s t r i c h :

90 % Lymphozyten, einige unreife Formen, Erythropoese:
überwiegend polychromatische Normoblasten
granulozytäre Reifungsstörung

P H A - K u l t u r :

Verzögerte Transformation auf 1/15 des Normalwerts, kein
deutlicher Spätgipfel.

D N C E - T e s t : negativ

T u b e r k u l i n - T e s t : negativ

Die Milz war im tiefen Inspirium 2 cm unter dem Rippenbogen tastbar, die Leber wurde nicht vergrößert gefunden. Submandibulär, cervical, inguinal beidseits und links axillär konnten einzelne ca. bohnen große weiche, indolente und gut verschiebbliche Lymphknoten palpiert werden. In der rechten Axilla fand sich ein walnußgroßes Lymphom. Im Röntgenbild konnte keine Hilusvergrößerung festgestellt werden. Eine abdominelle Lymphangiographie zeigte Speicherdefekte im Bereich der paraaortalen Lymphknoten.

Im Verlauf der extrakorporalen Bestrahlung des Blutes fiel die periphere Lymphozytenzahl auf $11\,000/\mu\text{l}$ ab, danach mußte die Bestrahlung wegen Thrombosierung des Ciminoshunts abgebrochen werden. Zu diesem Zeitpunkt konnte aber bereits auf eine weitere Therapie verzichtet werden.

Unmittelbar nach Bestrahlung wurde von uns die zweite umsatzkinetische Untersuchung durchgeführt. Klinisch war ein merklicher Rückgang der Lymphknotenschwellungen zu verzeichnen, die Milz kaum mehr unter dem Rippenbogen tastbar. Gleichzeitig zeigten die Thrombozyten einen Anstieg auf durchschnittlich $120\,000/\mu\text{l}$.

L a b o r w e r t e :

Hb 9,06 g%, Erythrozyten $3,31\text{ Mio}/\mu\text{l}$, Hb_E 27,4 pg
Leukozyten $13\,400/\mu\text{l}$

Differentialblutbild:

Lymphozyten	80 % = $11\,000/\mu\text{l}$
Monozyten	4 %
segmentk. neutroph. Granulozyten	14 %
stabk. neutroph. Granulozyten	2 %

Thrombozyten $120\,000/\mu\text{l}$

Retikulozyten 30 %

Der Patient entwickelte nach Therapie trotz prophylaktischer Gabe von Allopurinol Harnsäuresteine, die aber

auf natürlichem Wege abgetrieben werden konnten. In der Folgezeit blieb der Patient trotz zunehmender Lymphozytose klinisch unauffällig, die Erythrozytenwerte stiegen deutlich an. Etwa neun Monate nach Therapie wurde während eines stationären Aufenthalts die dritte Umsatzuntersuchung durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt waren neben einer Leukozytose von ca. 68 000/ μ l wieder erbs- bis bohngroße Lymphome, sowie eine Vergrößerung der Milz auf 2 cm unter dem Rippenbogen nachweisbar. Zwei Wochen vor Untersuchungsbeginn wurden folgende Blutwerte bestimmt:

Hb 11,9 g%, Erythrozyten 4,24 Mio/ μ l, Hb_E 28 pg
Leukozyten 62 200/ μ l

Differentialblutbild:

Lymphozyten	95 % = 59 000/ μ l
eosinoph. Granulozyten	1 %
Myelozyten	1 %
segmentk. neutroph. Granulozyten	3 %

Thrombozyten 69 000/ μ l

Retikulozyten 9 ‰

Eine weitere starke Zunahme der Lymphozytose konnte in der Folgezeit durch die Gabe des synthetischen ACTH - Präparats Cortrophin S^R weitgehend verhindert werden. Bis auf gehäufte Infekte ist der Zustand des Patienten bis heute zufriedenstellend, eine erneute Strahlen- oder Chemotherapie war nicht mehr nötig.

Patient AR:

Die Diagnose chronische lymphatische Leukämie wurde bei dem Patienten ein Jahr vor der ersten Umsatzuntersuchung gestellt. Der Patient war damals 71 Jahre alt und bemerkte seit einiger Zeit Leistungsminderung, Gewichtsverlust und eine ständige Größenzunahme der Leistenlymphknoten. Außerdem gab der Patient an, zwei Jahre

vorher einen Herpes zoster der Lumbalsegmente durchgemacht zu haben. Bei der Diagnosestellung wurde eine Leukozytose von 145 000/ μ l mit 94 % Lymphozyten und eine erhebliche lymphatische Infiltration des Knochenmarks nachgewiesen. Die Milz war handbreit unter dem Rippenbogen zu tasten, die inguinalen Lymphknoten waren stark vergrößert. Eine sofort durchgeführte Milzbestrahlung (4200 rad in 25 Sitzungen) erbrachte einen deutlichen Rückgang der Milz- und Lymphknotenschwellungen. Die Leukozytenzahl fiel auf 20 000/ μ l ab. Im Laufe der nächsten Monate kam es allerdings zu einer Zunahme der Herpesbeschwerden und der allgemeinen Symptome, die Leukozytenwerte waren erneut auf über 100 000/ μ l angestiegen. Der Patient wurde deshalb ein Jahr später zur Vorbereitung auf eine extrakorporale Bestrahlung des Blutes stationär aufgenommen. In dieser Zeit erfolgte die erste umsatzkinetische Untersuchung. Gleichzeitig wurden folgende hämatologischen Befunde erhoben:

L a b o r w e r t e :

Hb 10,0 g%, Erythrozyten 3,36 Mio/ μ l, Hb_E 29,8 pg
Leukozyten 123 000/ μ l

Differentialblutbild:

Lymphozyten	94	% = 110 000/ μ l
Monozyten	1,2	%
eosinoph. Granulozyten	0,6	%
segmentk. neutroph. Granulozyten	3,6	%
stabk. neutroph. Granulozyten	0,6	%

Thrombozyten 210 000/ μ l

Retikulozyten 20 ‰

Elektrophorese: Gesamteiweiß 6,5 g%
63,6/ 3,3/ 8,6/ 9,3/ 15,2

Immunelektrophorese: Verminderung von IgA und IgM, keine
Paraproteine

P H A - K u l t u r : Transformationsdefekt

D N C B - T e s t : schwach positiv bei 0,1 ml

T u b e r k u l i n - T e s t : schwach positiv

Da der angelegte Ciminoshunt sich nicht funktionell ausbildete, mußte auf die vorgesehene extrakorporale Blutbestrahlung verzichtet werden. Zugleich war jedoch eine Zunahme der Lymphombildung nachweisbar, so daß stattdessen für ca. acht Wochen Chlorambucil in Kombination mit Fluocortolon verabreicht wurde. Unter dieser Therapie sank die Leukozytenzahl auf 50 000/ μ l ab, außerdem konnte eine leichte Verkleinerung der Lymphknoten und der Milz erreicht werden. Ein gleichzeitiges Absinken der übrigen Blutzellen zwang jedoch zum Absetzen der Medikamente und zur Durchführung einer erneuten Milzbestrahlung. Im Anschluß an diese Behandlung war die Milz nicht mehr tastbar vergrößert, die Leukozyten sanken auf Werte um 8000/ μ l. Im roten Blutbild kam es zu einer allmählichen Konsolidierung. Dieser kompensierte Zustand könnte in den nächsten Monaten ohne Therapie aufrecht erhalten werden, zumal kein erneutes Wachstum der Lymphknoten festgestellt wurde und die periphere Lymphozytenzahl nur sehr langsam anstieg. In dieser Zeit wurde die zweite Umsatzbestimmung von uns durchgeführt.

Zwei Jahre nach dieser Untersuchung starb der Patient an einer Alterskachexie, die Erkrankung konnte bis dahin mit einer geringen Dosierung von Cortrophin S^R in einem relativ stabilen Zustand gehalten werden.

Die hämatologischen Untersuchungen zum Zeitpunkt des von uns durchgeführten zellkinetischen Versuchs ergaben folgendes Bild:

Hb 12,6 g%, Erythrozyten 4,09 Mio/ μ l, Hb_E 30,8 pg
Leukozyten 25 000/ μ l

Differentialblutbild:

Lymphozyten	84 % = 20 000/ μ l
basoph. Granulozyten	1 %
eosinoph. Granulozyten	2 %
segmentk. neutroph. Granulozyten	13 %

Thrombozyten 90 000/ μ l

Retikulozyten 8 ‰

Elektrophorese und Immunelektrophorese waren nahezu unverändert.

2. Methode:

2.1. Markierungsverfahren:

Zur Kennzeichnung neugebildeter Blutlymphozyten wurde von uns der mit Tritium markierte DNS-Baustein Thymidin-desoxyribosid¹ (spezifische Aktivität 5 Ci/mMol) über einen Zeitraum von 24 Stunden angeboten. Zwei Drittel der Tagesdosis (= 0,1 μ Ci/g Körpergewicht) wurde zu Beginn der Dauermarkierung als Pulsinjektion intravenös verabreicht, die weitere Gabe erfolgte mit Hilfe einer Dosierpumpe kontinuierlich über einen Venenkatheter. Im Nebenschluß wurde physiologische Kochsalzlösung verabreicht, um eine Okklusion des Katheters zu verhindern. Die Dosierung wurde so eingestellt, daß pro Stunde 380 μ Ci, also insgesamt 9 mCi infundiert wurden. Blutproben wurden am ersten Tag stündlich, dann bis zum Ende der zweiten Woche im Abstand von 12 Stunden, danach bis Ende des Versuchs einmal pro Tag abgenommen. Neben der Bestimmung der peripheren Leukozytenzahl mit Hilfe eines Coulter Counters wurde von jeder Blutprobe ein Differentialblutbild angefertigt. Außerdem war es

¹Radiochemical Centre Amersham, Great Britain

nötig, für die autoradiographischen Untersuchungen Zellkonzentrate herzustellen. Zu diesem Zweck wurde ein Teil des entnommenen Blutes mit EDTA-Plasmagel² gemischt, die Erythrozyten absedimentiert und der leukozytenreiche Überstand abpipettiert. Nach Zentrifugieren mit 240 g über fünf Minuten wurden aus dem Zellsediment Präparate ausgestrichen, luftgetrocknet und mit 100 %igem Methylalkohol 3 x 10 Minuten fixiert.

Um die radioaktive Markierung sichtbar zu machen, wurden die so hergestellten Präparate mit Kodak - AR 10 stripping film beschichtet, in lichtdichten Bakelitkästchen zusammen mit CaCl_2 als Feuchtigkeitsabsorber 95 Tage bei 4°C exponiert, anschließend entwickelt und mit gepufferter 2 %iger GiemsaLösung (pH 5,75) gefärbt.

2.2. Mikroskopische Auswertung:

In den sehr lymphozytenreichen Präparaten konnten ohne Schwierigkeit pro Ausstrich 3000 Lymphozyten von den übrigen Zellen differenziert und gesondert ausgewertet werden. Die Differenzierung erfolgte nach den üblichen morphologischen Kriterien.

Mit Hilfe eines Okularmikrometers wurden zuerst 500 Lymphozytenkerne ausgemessen, um die Zusammensetzung der verschiedenen Größenklassen zu ermitteln. Dabei wurden Zellen, deren Kerndurchmesser kleiner als 8,5 μ war als kleine Lymphozyten, Zellen mit einem Kerndurchmesser ab 8,5 μ bis 9,9 μ als mittelgroße und ab 10 μ als große Lymphozyten klassifiziert. Jeder markierte Lymphozyt (s.u.) wurde ebenfalls ausgemessen und die Anzahl der Silberkörnchen über dem Kern gezählt. Um jedoch eine Zelle eindeutig als markiert zu erkennen, war es nötig, sie von der unspezifischen Hintergrund-

²EDTA-Plasmagellösung Volumenverhältnis 1/1:

1,107 g EDTA + 1,4 g NaCl ad 100 ml Aqua dest. + 100 ml

Plasmagel^R
Plasmagel^R Braun Melsungen, Melsungen BRD

markierung abzugrenzen. Zu diesem Zweck mußte ebenfalls bei 500 Lymphozyten die Anzahl der Silberkörnchen über Kern und Zytoplasma gezählt werden. Dabei stellten wir fest, daß der größte Teil der Zellen unmarkiert war, ein weiterer wesentlicher Anteil wies 1 Körnchen pro Zelle, ein kleiner Teil 2, 3, 4, oder 5 Körnchen auf. Zellen mit mehr als 6 Körnchen pro Zelle waren praktisch nicht vorhanden, mit Ausnahme einer wechselnden Anzahl von Lymphozyten, die alle 10 oder mehr Körnchen über dem Kern erkennen ließen. Diese Zellen wurden als markiert angesehen.

Durch die Auswertung von Leerpräparaten konnte diese Abgrenzung bestätigt werden. Bei diesen Präparaten, die aus Blutproben vor Beginn der Dauermarkierung angefertigt worden waren, wurde im Bereich der diffusen Hintergrundmarkierung keine Zellen mit mehr als 6 Körnchen über Kern und Zytoplasma gefunden, mit Ausnahme einer geringen Anzahl eindeutig markierter kleiner Lymphozyten, die von früher durchgeführten Umsatzuntersuchungen stammten. Sie wurden gesondert bestimmt und bei der Ermittlung der Markierungsindices für unseren Versuch berücksichtigt.

Der Markierungsindex stellt den prozentualen Anteil an markierten Lymphozyten dar. Er wurde bei jedem Präparat für die gesamten Lymphozyten und für die einzelnen Größenklassen gesondert bestimmt.

Außerdem wurde für jedes Präparat die mittlere Markierungsintensität, ausgedrückt durch die mittlere Körnchenzahl pro markierter Zelle, ermittelt.

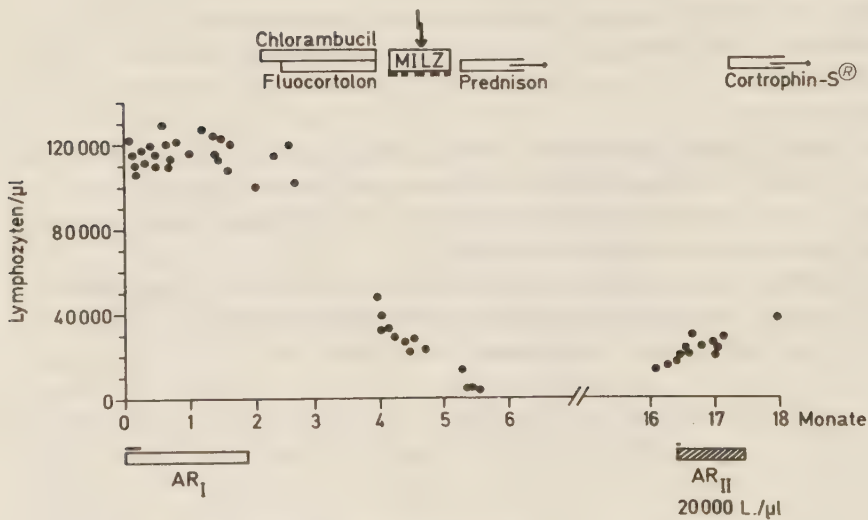
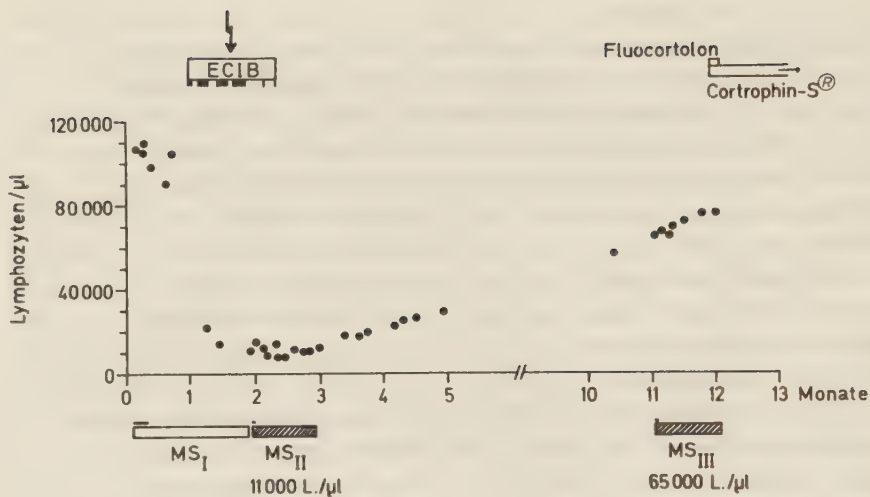


Abb. 1 Zeitlicher Verlauf der peripheren Lymphozytenzahlen bei Patient MS und Patient AR

ERGEBNISSE

1. Einleitung

Abbildung 1 zeigt das Verhalten der peripheren Lymphozytenzahlen bei den von uns untersuchten Patienten vor, während und nach Therapie. Die mit MS_I , MS_{II} , MS_{III} , bzw. AR_I und AR_{II} unterschriebenen Abschnitte stellen die Zeiträume dar, in denen Umsatzbestimmungen vorgenommen wurden. Die von uns selbst durchgeführten Untersuchungen nach Therapie werden im folgenden ebenfalls als MS_{II} , MS_{III} bzw. AR_{II} bezeichnet. Sie sollen einen Vergleich zu den umsatzkinetischen Befunden vor Therapie (MS_I , AR_I) liefern, wie sie von THEML et al. erhoben und zum größten Teil bereits veröffentlicht wurden (30). Dieser Vergleich wiederum soll die Aussagemöglichkeiten der verwendeten Methode im Sinne einer Längsschnittuntersuchung erweitern und die Auswirkungen verschiedener Therapieformen auf die Lymphozytenneuproduktion darlegen.

Ausgangspunkt aller umsatzkinetischen Betrachtungen muß jedoch der Verlauf der peripheren Lymphozytenzahlen sein. Aus ihm ergeben sich eine Reihe von wichtigen Fragen, denen die umsatzkinetischen Ergebnisse am Schluß dieser Arbeit gegenübergestellt werden sollen.

Folgende Feststellungen sind aus Abb. 1 zu entnehmen:

1. Bei beiden Patienten steigt die Anzahl der Lymphozyten nach Therapie wieder an. Dieser Anstieg scheint zuerst etwas flacher zu verlaufen und dann an Steilheit zuzunehmen.

Frage: Wie ist diese Zunahme der Zellzahl zu erklären? Liegt die Ursache dieser Zunahme in einer ständigen Ausweitung der Proliferation, wie die annähernd exponentielle Form des Anstiegs vermuten läßt, oder ist eine Akkumulation sehr langlebiger Zellen mit konstanter Neubildungsrate dafür verantwortlich zu machen?

Ist der anfangs flache Anstieg der Lymphozytenzahlen durch eine vorübergehende Beeinträchtigung der Proliferation bedingt, die auf die Therapie zurückzuführen ist? Wie verhält sich die Lymphozytenneubildung bei diesen CLL - Patienten im Vergleich zur normalen Lymphozytopoese? Welche Zellen werden gebildet und inwieweit tragen sie zu der enormen Zunahme der Zellzahl bei?

2. Die Zunahme der peripheren Lymphozytenzahl erfolgt bei dem Patienten AR nach Cytostatica-Cortison-Therapie und Milzbestrahlung langsamer als bei dem Patienten MS, bei dem eine extrakorporale Bestrahlung des Blutes vorgenommen wurde.
Frage: Wie wirken sich die genannten Therapieformen auf die Zellneubildung aus?

Gerade in Hinsicht auf diese letztgenannte Frage werden im folgenden zuerst die Ergebnisse von MS_{II} und AR_{II} gegenübergestellt, bevor auf den dritten Versuch bei Patient MS eingegangen wird. Dabei bieten sich bereits gute Vergleichsmöglichkeiten, da beide Patienten in den Untersuchungen vor Therapie einen ähnlichen Zellumsatz aufwiesen und die Umsatzbestimmungen nach Therapie bei jeweils relativ niedrigen Lymphozytenzahlen erfolgten. Bei direktem Vergleich der Markierungsindexkurven ist jedoch darauf zu achten, daß ein Anstieg des Markierungsindex um 1 % beim Patienten AR einer Zunahme von 200 markierten Zellen pro μ l Blut gegenüber 110 markierten Zellen beim Patienten MS entspricht.

Bei allen drei Versuchen wird zuerst das Verhalten der Markierungsindices der Gesamtpopulation betrachtet, bevor die Aufteilung in einzelne Größenklassen vorgenommen wird. Die Darstellung der Ergebnisse wird durch eine Abgrenzung der DNS-synthetisierenden Blutlymphozyten eingeleitet und durch eine kurze Beschreibung der Markierungsintensitäten abgeschlossen.

2. Ergebnisse der in vitro-Markierung mit ^3H -Thymidin

Nicht bei allen im Verlauf des Versuches im Blut als markiert erscheinenden Zellen handelt es sich um neugebildete Lymphozyten, die durch Einbau von ^3H -Thymidin in der DNS-Synthesephase ihrer Vorläuferzellen und nachfolgender Teilung entstanden sind. Wie die Inkubation von Blutlymphozyten mit ^3H -Thymidin zeigt, besitzt auch ein gewisser Prozentsatz der Blutlymphozyten die Fähigkeit, ^3H -Thymidin aufzunehmen. Dieser Prozentsatz von DNS-synthetisierenden Blutlymphozyten muß bei der Analyse der Neubildungsrate, vor allem in Hinblick auf den Zeitpunkt des Erscheinens der ersten neugebildeten markierten Zellen, berücksichtigt werden. In unseren Versuchen gehörten sie ausschließlich zur Gruppe der großen und mittelgroßen Lymphozyten. Der Markierungsindex nach einstündiger Inkubation bestimmt, betrug 0,15 % aller Blutlymphozyten bei Patient MS_{II}, 0,045 % bei Patient AR_{II} und 0,11 % bei Patient MS_{III}. Dabei waren von den großen Lymphozyten 0,57 % bei MS_{II}, 0,14 % bei AR_{II} und 0,7 % bei MS_{III} markiert. Ein entsprechender Anteil markierter DNS-synthetisierender Blutlymphozyten muß also auch bei der in vivo-Markierung für den Zeitraum der Dauerinfusion angenommen werden.

3. Ergebnisse der in vivo-Markierung mit ^3H -Thymidin

Die folgenden Ergebnisse über Zellumsatz und Neubildung von Blutlymphozyten bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie werden durch Analyse von Ein- und Ausstrombewegungen markierter Blutlymphozyten gewonnen. Dabei werden Begriffe und Zusammenhänge verwendet, die eine exakte Definition erfordern. Diese soll deshalb kurz den jeweiligen Kapiteln vorangestellt werden.

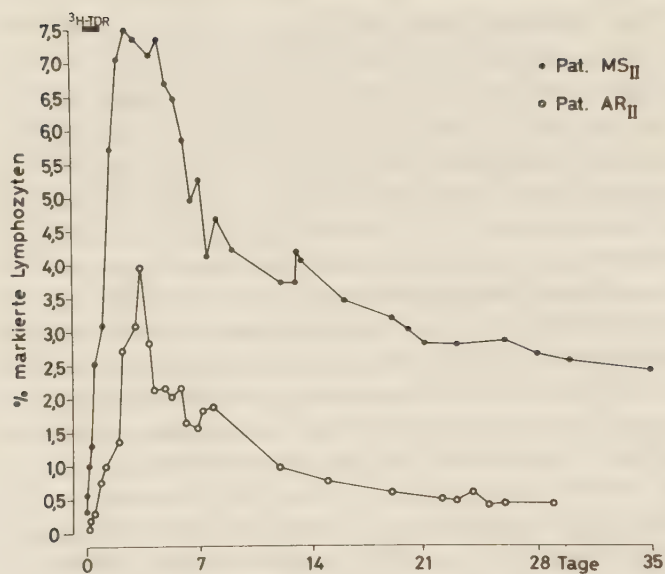


Abb. 2 Zeitliche Änderung des Markierungsindex für die gesamten Lymphozyten bei Patient MS_{II} und Patient AR_{II}

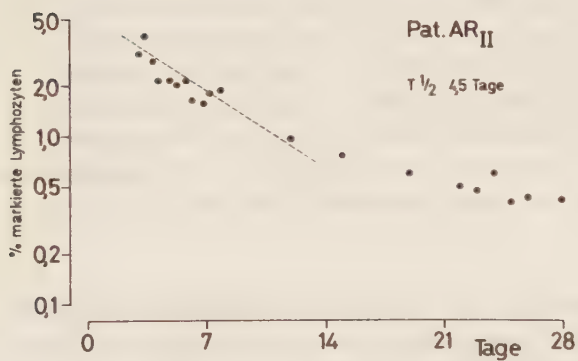
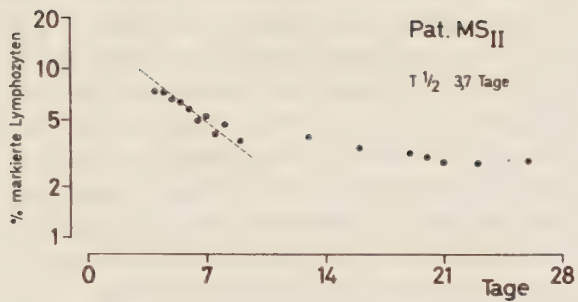


Abb. 3 H a l b w e r t s z e i t des Verschwindens
kurzlebiger markierter Lymphozyten aus dem
Blut bei Patient MS_{II} und Patient AR_{II}
(Gesamtindex - semilogarithmische Darstellung)

3.1. Begriffsbestimmung

Unter Anstiegsrate verstehen wir die tägliche Zunahme des Markierungsindex, d.h. des prozentualen Anteils markierter Zellen an der Gesamtpopulation. Ist die Größe der Gesamtpopulation bekannt, so kann daraus auf die tägliche Einstromrate markierter Zellen geschlossen werden. Anstiegsrate bzw. Einstromrate werden aus dem Anstieg der Markierungsindexkurve entnommen und in Prozent pro Tag bzw. absoluter Anzahl pro Tag ausgedrückt. Erfolgt dieser Anstieg trotz kontinuierlichen Einstroms markierter Zellen nicht linear, sondern ist eine Abflachung durch zunehmenden Verlust markierter Zellen feststellbar, so müssen die genannten Größen aus dem Anfangsteil der Kurve ermittelt werden. Nur so kann der tatsächliche Einstrom markierter Zellen erfaßt werden, da der Abstrom zu diesem Zeitpunkt noch sehr gering ist. Anstiegsrate und Einstromrate entsprechen unter gewissen Bedingungen, die später noch diskutiert werden müssen, der durchschnittlichen Umsatzrate bzw. Neubildungsrate der untersuchten Zellpopulation.

3.2. Ergebnisse aus dem Verlauf der Markierungsindexkurven

Die ersten markierten neugebildeten Lymphozyten erscheinen bei MS_{II} sowie auch MS_{III} ca. 4 Stunden nach Beginn der Dauerinfusion im Blut. Bei Patient AR ist dieser Zeitraum etwas verlängert, die ersten sicher neugebildeten Zellen sind hier nach ca. 12 Stunden zu beobachten. Dies entspricht genau den Verhältnissen, wie sie vor Therapie von THEML et al. bei MS_I und AR_I gefunden wurden. Der weitere Verlauf des Markierungsindex bei MS_{II} und AR_{II} ist in Abb. 2 dargestellt.

Die beiden Kurven zeigen durchwegs ähnlichen Verlauf und lassen eine Anstiegsphase, die ihren höchsten Punkt um den dritten Tag erreicht, sowie eine exponentielle Abfallphase erkennen, gefolgt von einem annähernd gleich-

bleibenden Markierungsindex bis zum Versuchsende. Aus der Höhe der Werte, die dabei erreicht werden, kann jedoch auf eine erhebliche Differenz zwischen den Patienten in bezug auf die Anzahl markierter Zellen im Blut geschlossen werden. So sind bei dem Patienten MS z.B. am dritten Tag etwa 7,5 % aller Zellen markiert, wogegen beim Patienten AR nur etwa 3 % aller Zellen eine Markierung aufwiesen. Unter Berücksichtigung der verschiedenen peripheren Lymphozytenzahlen entspricht das einem Wert von 825 markierten Zellen/ μ l Blut bei Patient MS gegenüber 600/ μ l Blut bei Patient AR. Entsprechend sind am Ende des Versuchs noch 2,4 % bzw. 264 Zellen/ μ l Blut bei Patient MS und 0,6 bzw. 120 Zellen/ μ l Blut bei Patient AR als markiert zu betrachten. Der dazwischen liegende exponentielle Abfall erfolgt bei beiden Patienten mit einer ähnlichen Halbwertszeit von 3,7 Tagen bei Patient MS und 4,5 Tagen bei Patient AR.

(Abb. 3)

Die in den ersten Tagen beobachtete Zunahme der Markierungsindices muß als Ausdruck eines ständigen Einstroms markierter Zellen in das Blut angesehen werden, von denen ein größerer kurzlebiger Anteil dieses Kompartiment mit einer Halbwertszeit von 3,7 bzw. 4,5 Tagen wieder verläßt, während ein offensichtlich langlebiger Anteil auch am Ende des Versuchs noch nahezu unverändert nachweisbar ist.

Aus dem Anfangsteil der Kurve läßt sich eine Anstiegsrate von 4 %/Tag bei Patient MS und 1,26 %/Tag bei Patient AR nach den oben genannten Kriterien entnehmen, das entspricht einem täglichen Einstrom von 440 bzw. 252 markierten Zellen/ μ l Blut. Die Höhe des "Plateaus" nach Abstrom der kurzlebigen Zellen kennzeichnet mit 2,4 bzw. 0,6 % einen Bestand an langle-

bigen markierten Zellen von 264/ μ l Blut bei Patient MS und 120/ μ l Blut bei Patient AR.

Pat.	Periph. LZ/ μ l	Anstiegs- rate %/die	Einstrom- rate mark. LZ/die	Halb- werts- zeit dies	MI %	Bestand an langlebigen LZ ("Plateau")
MS _{II}	11000	4	440	3,7	2,4	264
AR _{II}	20000	1,26	252	4,5	0,6	120

Dank der von uns gewählten Methode kann jedoch noch eine weitere Differenzierung nach morphologischen Kriterien in verschiedene Größenklassen vorgenommen werden. Die Abbildungen 4 und 5 zeigen den Verlauf der Markierungsindices der kleinen, mittelgroßen und großen Lymphozyten bei MS_{II} und AR_{II}. Wegen der besseren Übersichtlichkeit werden hier die beiden Patienten gesondert dargestellt.

Der Vorteil dieser Differenzierung in kleine, mittelgroße und große Lymphozyten wird sofort aus dem sehr unterschiedlichen Verhalten der einzelnen Größenklassen deutlich, das bei beiden Patienten beobachtet werden kann. Einem sehr starken Einstrom markierter Zellen bei den großen Lymphozyten - ausgedrückt durch eine steil ansteigende Kurve mit hohen Gipfelwerten -, von denen aber der weitaus größte Teil mit einer sehr kurzen Halbwertszeit sofort wieder verschwindet, steht ein relativ geringer Einstrom fast durchwegs langlebiger Zellen bei den kleinen Lymphozyten gegenüber. Die mittelgroßen Lymphozyten liegen sowohl in der Einstromrate als auch in ihrer Zusammensetzung zwischen diesen beiden Populationen.

Werden Einstromraten nach der gleichen Methode wie beim Gesamtindex bestimmt, so setzen sich die 440 markierten

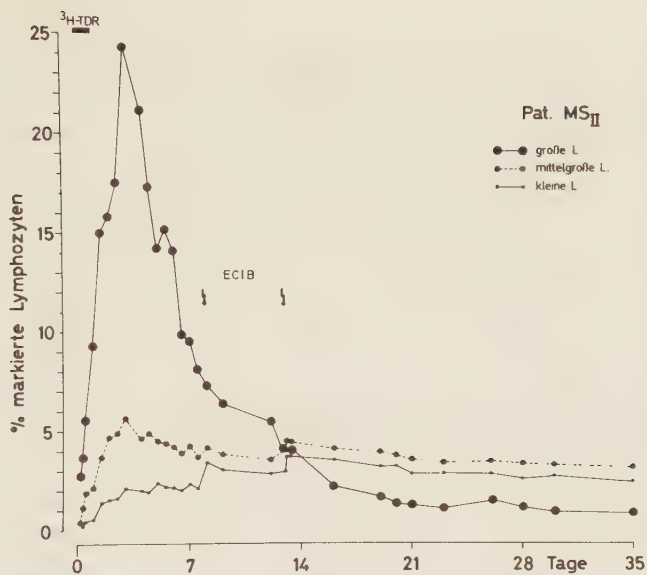


Abb. 4

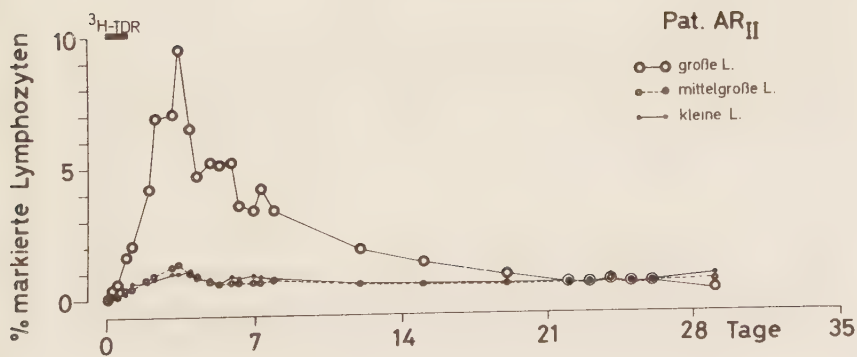


Abb. 5

Abb. 4 und 5 Zeitliche Änderung des Markierungsindex für die verschiedenen Größenklassen bei Patient MS_{II} und AR_{II}

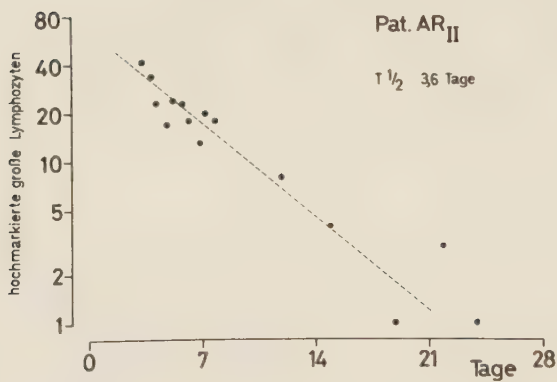
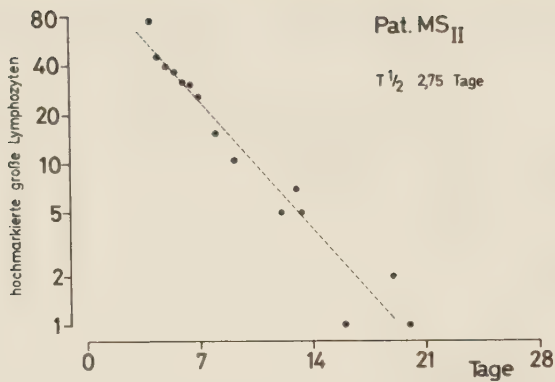


Abb. 6 Halbwertszeit des Verschwindens großer kurzlebiger hochmarkierter Lymphozyten aus dem Blut bei Patient MS_{II} und Patient AR_{II} (semilogarithmische Darstellung)

Zellen/ μ l Blut/Tag bei MS_{II} aus 253 großen, 161 mittelgroßen und 26 kleinen Lymphozyten zusammen. Bei Patient AR_{II} sind von den 252 markierten Zellen/ μ l Blut/Tag 200 große, 43 mittelgroße und 9 kleine Lymphozyten. Von den eingeströmten großen Lymphozyten sind wiederum nach Abstrom der kurzlebigen noch ca. 4 bzw. 5 % im Blut vorhanden, der Rest ist zu diesem Zeitpunkt bereits mit einer Halbwertszeit von 2,75 bzw. 3,6 Tagen aus dem Blut eliminiert worden (siehe Abb. 6).

Ganz andere Werte errechnen sich für die kleinen Lymphozyten. Hier sind bei MS_{II} fast 90 % der markierten Lymphozyten am Ende des Versuchs noch im Blut nachweisbar, nachdem der kurzlebige Anteil von etwa 10 % dieses Kompartiment mit einer Halbwertszeit von 5,6 Tagen wieder verlassen hat. Ähnliche Verhältnisse für die kleinen Lymphozyten werden auch bei Patient AR_{II} beobachtet. Sie sind zusammen mit den übrigen Befunden aus der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Pat.	Größen klasse	periph. LZ/ μ l	Anstiegs- rate %/die	Einstrom- rate mark. LZ/die	T1/2 dies	MI %	Bestand an lang- leb. LZ ("Plateau")
MS _{II}	klein	2750(25%)	0,8	26	5,6	2,1	69
	mttl.	5720(52%)	2,8	161	5,6	2,7	105
	groß	2530(23%)	10,0	253	2,75	1,2	30
AR _{II}	klein	2210(13%)	0,38	9	5,5	0,65	15
	mttl.	9350(55%)	0,4	43	5,5	0,69	75
	groß	5440(32%)	3,16	200	3,6	0,48	30

Auf ein weiteres Phänomen, das ebenfalls erst durch gesonderte Betrachtung der einzelnen Größenklassen deutlich

sichtbar wurde, sei an dieser Stelle noch kurz hingewiesen:

Unmittelbar nach zwei bei Patient MS_{II} im Versuchszeitraum durchgeführten extrakorporalen Bestrahlungen des Blutes am 8. und 13. Tag, ist ein deutliches Ansteigen des Markierungsindex vor allem bei den kleinen, aber auch bei den mittelgroßen Lymphozyten zu beobachten. Da angenommen werden muß, daß durch die Bestrahlung unmarkierte und markierte Zellen gleichmäßig geschädigt werden, ist zu diesen Zeitpunkten der Einstrom von Lymphozyten aus einem Zellspeicher zu vermuten, der nicht in freiem Austausch mit den Blutlymphozyten steht, da er offensichtlich einen höheren Markierungsindex aufweist. Als Erklärung bietet sich der von SCHIFFER (28) beschriebene sogenannte "schwer mobilisierbare Pool" an, der nach anhaltender extrakorporaler Bestrahlung des Blutes zur Aufrechterhaltung des Blutzellspiegels herangezogen wird. Als Ursprungsort der einströmenden Zellen sind die Lymphknoten zu vermuten, wo THEML et al. (30) einen höheren Markierungsindex als im Blut gefunden haben. Ein ähnliches Phänomen, wie das von uns beobachtete, wurde von BREMER et al. (12) nach Retransfusion autologer mit ³H-Cytidin markierter Lymphozyten bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie beschrieben, bei denen unter extrakorporaler Bestrahlung des Blutes eine plötzliche Abnahme des Markierungsindex auftrat, die auf einen Einstrom unmarkierter Zellen zurückgeführt werden mußte.

Wie bereits eingangs erwähnt, haben wir versucht, neben der Gegenüberstellung der umsatzkinetischen Daten zweier Patienten vor und nach verschiedenartiger Therapie, weitere Vergleichsmöglichkeiten zu schaffen. Zu diesem Zweck wurde bei dem Patienten MS eine dritte Untersuchung nach der gleichen Methode neun Monate später durchgeführt.

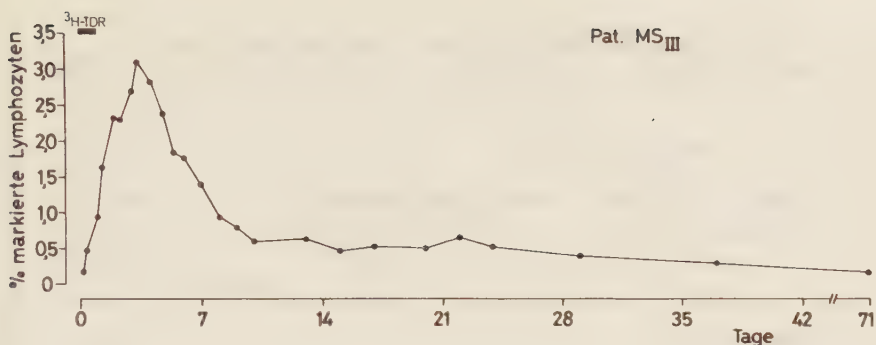


Abb. 7 Zeitliche Änderung des Markierungsindex für die gesamten Lymphozyten bei Patient MS_{III}

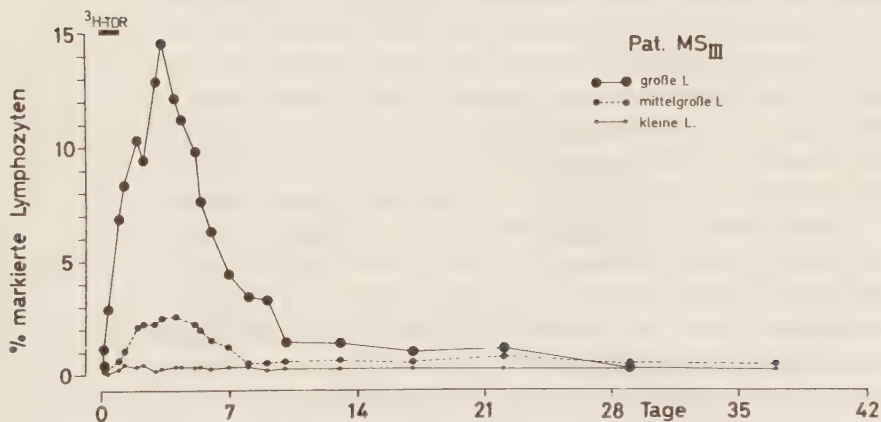


Abb. 8 Zeitliche Änderung des Markierungsindex für die verschiedenen Größenklassen bei Patient MS_{III}

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind aus den Abbildungen 7, 8 und 9 sowie aus der folgenden Kurztabelle zu sehen:

Pat.	Größen- klasse	periph. LZ/ μ l	Anstiegs- rate%/die	Einstrom- rate mar. LZ/die	T1/2 MI dies	MI %	Bestand an lang- leb. LZ ("Plateau")
MS _{III}	gesamt	65000	1,2	780	2,9	0,6	390
	klein	23100(35%)	0,13	30	4,8	0,24	69
	mttl.	34100(53%)	0,6	205	2,5	0,6	255
	groß	7800(12%)	6,0	545	2,5	0,66	66

Insgesamt zeigen die Kurven den gleichen Verlauf, wie er bei MS_{II} und AR_{II} zu beobachten war, mit einer Anstiegsphase, einer zwischenzeitlichen exponentiellen Abfallphase und einem nahezu konstanten "Plateau", hervorgerufen durch markierte Zellen, die keine deutliche Abstrombewegung erkennen lassen. Die Markierungsindexwerte, die in den Kurven erreicht werden, sind jedoch deutlich niedriger als die entsprechenden Werte bei MS_{II}, sie sind annähernd mit denen bei Patient AR_{II} vergleichbar. Beim Vergleich der einzelnen Kurven ist jedoch darauf zu achten, daß die Befunde bei Patient MS_{III} zu einem Zeitpunkt erhoben wurden, als die Gesamtlymphozytenzahl schon wieder auf das 6-fache, nämlich 65 000/ μ l angestiegen war. Die relativ niedrige Anstiegsrate von 1,2 %/Tag kennzeichnet immerhin einen Einstrom von 780 markierten Zellen/ μ l Blut/Tag, der deutlich über dem Vergleichswert bei MS_{II} liegt. Der Bestand an langlebigen Zellen am Ende des Versuchs, dargestellt durch ein "Plateau" von 0,6 %, ist mit 390 Zellen ebenfalls gegenüber MS_{II} erhöht.

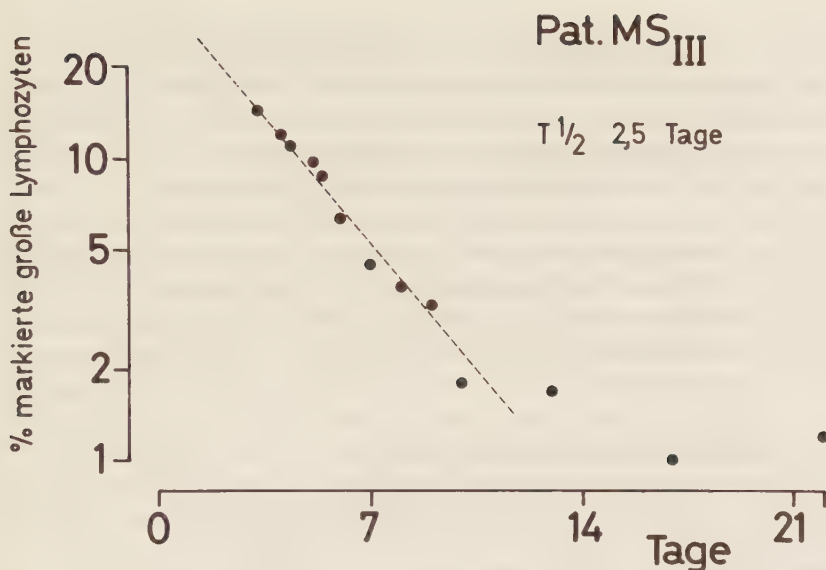


Abb. 9 Halbwertszeit des Verschwindens großer kurzlebiger markierter Lymphozyten aus dem Blut bei Patient MS_{III}

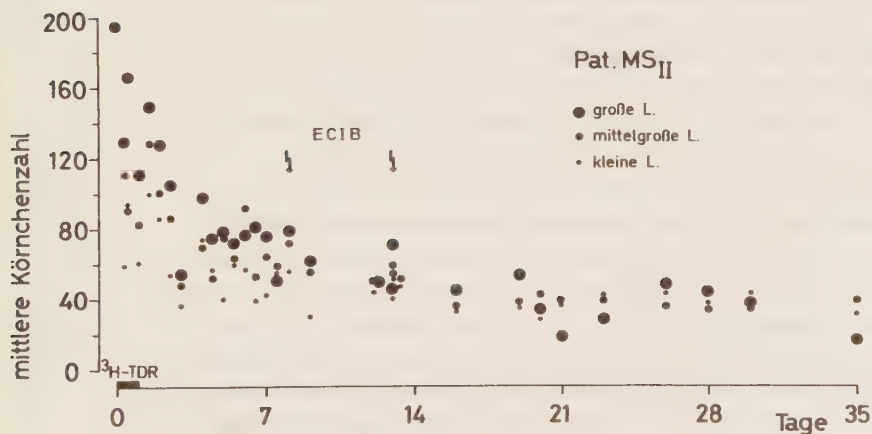


Abb. 10 Zeitlicher Verlauf der mittleren Markierungsintensität markierter Lymphozyten bei Patient MS_{II}. (Gesonderte Darstellung für kleine, mittelgroße und große Lymphozyten)

Insgesamt ist ein gegenüber den Befunden bei MS_{II} vermehrter Einstrom markierter Lymphozyten von 545 großen, 205 mittelgroßen und 30 kleinen festzustellen. Die morphologische Zusammensetzung der eingeströmten markierten Zellen, d.h. ihre Zugehörigkeit zu den einzelnen Größenklassen, sowie die Geschwindigkeit ihrer Elimination entspricht annähernd den bei MS_{II} gefundenen Gegebenheiten. Zum Vergleich sei hier noch einmal die Halbwertszeit der kurzlebigen großen Lymphozyten in Abb. 9 dargestellt.

3.3. Verlauf der Markierungsintensitäten

Abb. 10 zeigt den Verlauf der Markierungsintensitäten für die kleinen, mittelgroßen und großen Lymphozyten bei Patient MS_{II}. Ähnliche Verhältnisse wurden auch bei den anderen Versuchen vorgefunden, so daß die folgenden Aussagen für MS_{III} und AR_{II} ebenfalls zutreffen.

Im Gegensatz zu der Anzahl markierter Zellen, die um den vierten Tag am höchsten ist, werden die maximalen Markierungsintensitäten schon wesentlich früher, d.h. in den ersten Stunden nach der Dauerinfusion, gefunden. Die sich anschließende Abfallphase erreicht bei diesem Patienten nach etwa 14 Tagen einen Wert, der bis zum Ende des Versuches nahezu konstant bleibt.

Bei Vergleich der Kurven ist ein bemerkenswerter Unterschied zwischen den einzelnen Größenklassen festzustellen. Bei den großen - und in geringem Ausmaß auch bei den mittelgroßen Lymphozyten - sind initial sehr hohe Markierungsintensitäten vorhanden, während bei den kleinen Lymphozyten die Markierungsintensität in den ersten Stunden ansteigt und die höchste Körnchenzahl etwa am Ende der 24- stündigen Dauerinfusion nachge-

wiesen wird. Eine Erklärung dafür ist in der Existenz sehr hoch markierter DNS-synthetisierender Blutlymphozyten in der Klasse der großen und mittelgroßen Lymphozyten zu suchen. Wie die Ergebnisse der in vitro-Markierung zeigen, benötigen DNS-synthetisierende Blutlymphozyten nur sehr kurze Zeit zur Aufnahme der Markierungssubstanz und sind nach etwa einer Stunde als markierte Zellen im Blut nachweisbar. In den ersten Stunden nach Beginn der Dauerinfusion werden mit den markierten großen und mittelgroßen Lymphozyten also ausschließlich hochmarkierte DNS-synthetisierende Zellen erfaßt, erst mit zunehmender Verdünnung durch den Einstrom relativ niedrig markierter neugebildeter Zellen wird die Markierungsintensität annähernd der mittleren Körnchenzahl der kleinen Lymphozyten angeglichen.

DISKUSSION

Um aus den von uns beschriebenen Ein- und Ausstrombewegungen markierter Blutlymphozyten auf Neubildung, Umsatz und Lebensdauer dieser Zellen schließen zu können, müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein, die bei den ersten Umsatzbestimmungen vor Therapie von THEML et al. (30) im einzelnen dargestellt und diskutiert worden sind.

Die wichtigsten vier Punkte seien hier noch einmal angesprochen:

1. Mit Ausnahme der DNS[±]-synthetisierenden Blutlymphozyten, die gesondert erfaßt werden, sind alle markierten Lymphozyten neugebildete Zellen, die durch Teilung aus markierten Vorläuferzellen hervorgegangen sind. Diese wiederum erhielten ihre Markierung während der Dauerinfusion durch die Aufnahme radioaktiven Thymidins in ihrer DNS-Synthesephase.
2. In dem Zeitraum, in dem die Einstromrate markierter Zellen bestimmt wurde, waren alle einströmenden neugebildeten Zellen in dieser Weise markiert worden.
3. Für den gleichen Zeitabschnitt spielt eine eventuelle Reutilisation radioaktiven Materials überhaupt keine Rolle, die Störung der Abfallphase durch dieses Phänomen ist als sehr gering anzusehen. Eine leichte Überschätzung der Halbwertszeiten und des Bestands an langlebigen Zellen am Ende des Versuchs tritt, wenn überhaupt, bei allen drei Untersuchungen auf und ist für den Vergleich der einzelnen Ergebnisse unerheblich. Darüberhinaus konnten HEININGER et al. (20) nachweisen, daß im Gegensatz zum Knochenmark in den lymphatischen Organen, wo die Hauptmasse der Lymphozyten gebildet wird, eine Reutilisation markierten Materials als sehr gering anzunehmen ist.

4. Eine stärkere Verfälschung der Ergebnisse durch Radiotoxizität bei der von uns verwendeten Dosis wird auf Grund spezieller Untersuchungen als unwahrscheinlich angesehen (14, 15, 16).

Geht man von den oben genannten Voraussetzungen aus, so bedeutet das, daß die markierten Zellen im Blut unmittelbar das Verhalten neugebildeter Blutlymphozyten beschreiben. Damit entspricht die Einstromrate markierter Zellen der Neubildungsrate von Blutlymphozyten im untersuchten Zeitraum, die gemessene Anstiegsrate der Umsatzrate, die sich ergeben würde, wenn ein Gleichgewicht zwischen Neubildung und Verlust von Zellen angenommen werden könnte. Weiterhin muß hinter den markierten Zellen, die mit der beschriebenen Halbwertszeit das Blut relativ rasch wieder verlassen, eine spezielle Population von kurzlebigen Blutlymphozyten vermutet werden, während das "Plateau" den Bestand an neugebildeten Blutlymphozyten mit einer langen Lebensdauer beschreibt.

Bevor, ausgehend von diesen Ergebnissen, der Lymphozytenumsatz bei den von uns untersuchten Patienten im Zusammenhang dargestellt und diskutiert wird, sollen noch kurz zwei Punkte interpretiert werden, die nicht direkt in den Rahmen der umsatzkinetischen Betrachtung einzuordnen sind. Sie geben jedoch einen gewissen Hinweis auf die Proliferationskinetik der hier untersuchten Zellen, so daß auf ihre Darstellung nicht verzichtet werden kann.

Für den Zeitraum vom Beginn der Dauerinfusion bis zum Erscheinen der ersten neugebildeten markierten Zellen wurden von uns 4 Stunden bei Patient MS und 12 Stunden bei Patient AR ermittelt. Geht man davon aus, daß alle neugebildeten Zellen durch Teilung aus in ihrer DNS-Synthesephase markierten Vorläuferzellen entstanden

sind, so gibt diese Zeit den Minimalwert für die Summe aus prämitotischer Ruhephase plus Mitosephase der Vorläuferzelle, sowie Ausschwemmzeit für die neugebildete Tochterzelle an. Verglichen mit den Werten, die in der Literatur für Patienten ohne hämatologische Erkrankungen angegeben werden (21, 29, 32), erscheint dieser Zeitraum lediglich bei Patient AR etwas verlängert, während bei Patient MS zumindest für einen Teil der Lymphozyten eine ungestörte Lymphozytopoese und Ausschwemmung angenommen werden muß. Ein weiterer Hinweis auf eine qualitativ ungestörte Lymphozytopoese ist aus dem Vergleich zwischen der Markierungsindexkurve und der Kurve der Markierungsintensität zu gewinnen. Bei der Darstellung der Markierungsintensität wurde bereits darauf hingewiesen, daß die höchste mittlere Körnchenzahl regelmäßig zu einem Zeitpunkt erreicht wird, an dem der Einstrom markierter Zellen noch unvermindert anhält. Diese zeitliche Differenz der Markierungsindexkurve und der höchsten Markierungsintensität zeigt, daß die weitere Zunahme markierter Zellen nach Beendigung der Dauerinfusion durch den Einstrom niedrig markierter Zellen hervorgerufen wird. Dieses Phänomen ist auf eine steigende Anzahl von Zellen zurückzuführen, deren markierte frühe Vorläuferzellen nach Teilung und Wiedereintreten in den Generationszyklus beim Durchlaufen weiterer S-Phasen kein radioaktives Material mehr zur Verfügung hatten. Markierte Tochterzellen werden somit so lange in das Blut abgegeben, so lange Vorläuferzellen mit genügend hoher Markierungsintensität vorhanden sind, d.h. der Einstrom markierter Zellen über die Dauerinfusion hinaus gibt ein ungefähres Maß für die Durchgangszeit durch das Vorläuferkompartiment an. Für die großen Lymphozyten ergeben sich zwei Tage, bei den kleinen und mittelgroßen Lymphozyten scheint dieser Zeitraum etwas länger zu sein. Bei einer Generationszeit der Vorläuferzellen

von 10 bis 24 Stunden, wie sie in der Literatur angegeben wird (21, 26, 29, 33), können also für die großen Lymphozyten etwa 2 bis 4, für die kleinen und mittelgroßen Lymphozyten etwa 3 bis 5 Vorläufergenerationen vermutet werden. Dies entspricht den Verhältnissen, wie sie auch bei Tumorpatienten ohne lymphatische Erkrankungen beschrieben werden (31, 24).

Ein Hinweis auf eine therapieabhängige oder therapieunabhängige Änderung des proliferationskinetischen Verhaltens ist bei beiden Patienten nicht zu beobachten.

L y m p h o z y t e n u m s a t z

1. Begriffsbestimmung:

Unter Neubildungsrate verstehen wir die absolute Anzahl täglich neu einströmender Lymphozyten. Werden die anfangs genannten Bedingungen als gegeben vorausgesetzt, so ist sie bei unseren Versuchen für den Markierungszeitraum plus Durchgangszeit durch das Vorläuferkompartiment identisch mit der beobachteten Einstromrate markierter Zellen.

Als Umsatzrate wird der prozentuale Anteil an den Gesamtlymphozyten benannt, der durch den Einstrom neugebildeter Zellen täglich ersetzt wird. Unter Voraussetzung der beschriebenen Bedingungen und eines Gleichgewichts zwischen Neubildung und Verlust von Zellen, also eines gleichbleibenden Gesamtlymphozytenbestands, entspricht die Umsatzrate der Anstiegsrate der Markierungskurve.

Als Umsatzzeit wird der Zeitraum bezeichnet, den eine Zellpopulation benötigt, bis sie sich umgesetzt hat, d.h. bis alle Zellen durch neugebildete ersetzt worden sind. Zu diesem Zweck wird aus der täglichen Umsatzrate

durch Extrapolation auf den Zeitpunkt 100 %iger Erneuerung geschlossen. Obwohl für die Lymphozyten dieser Zeitpunkt der 100 %igen Erneuerung nicht festgelegt werden kann, da sie keine definierte Lebensdauer besitzen und nach den Zufallsgesetzen bereits Minuten nach ihrer Neubildung oder erst nach Jahren aus dem Blut verschwinden, ist der so bestimmte rechnerische Wert auch für die Lymphozyten als Maß für die durchschnittliche Lebensdauer geeignet. Voraussetzung dafür ist jedoch ebenfalls ein Gleichgewicht zwischen Neubildung und Verlust von Zellen.

Wird die Umsatzzeit für eine in bezug auf ihre Lebensdauer homogene Population ermittelt, so ist sie identisch mit der tatsächlichen mittleren Lebensdauer der untersuchten Zellen, die sich aus der Geschwindigkeit ihrer Elimination ergibt. In unserem Versuch ist dies nicht der Fall, da Umsatzbestimmungen nur für morphologisch differenzierbare Größenklassen durchgeführt werden können. Diese zeigen aber, in unterschiedlicher Zusammensetzung, jeweils mindestens zwei in bezug auf ihre Elimination verschiedene Subpopulationen, deren mittlere Lebensdauer aus der Halbwertszeit ihres Verschwindens bestimmt werden muß. Sie entspricht der sogenannten Bluttransitzeit und berechnet sich nach der Formel:

$$\text{mittlere Lebensdauer} = \text{Bluttransitzeit} = \frac{\text{Halbwertszeit}}{\ln 2}$$

Diese Bestimmung ist mit unserer Methode nur für die kurzlebigen Lymphozyten möglich, da nur für diese Population eine hinreichend genaue Halbwertszeit ihres Verschwindens aus der Markierungsindexkurve entnommen werden kann. Für die langlebigen Lymphozyten können dagegen nur gesonderte Umsatzzeiten bestimmt werden.

2. Berechnung und Diskussion umsatzkinetischer Parameter

Unter den oben genannten Voraussetzungen ergeben sich bei unseren Patienten für die Gesamtlmphozyten folgende Neubildungs- und Umsatzraten (Tabelle). Sie entsprechen den Einstrom- bzw. Anstiegsraten markierter Zellen und sollen hier als Ausgangspunkt unserer Betrachtungen noch einmal dargestellt werden.

Pat.	Umsatzrate= Anstiegsrate %/die	Neubildungsrate= Einstromrate/ μ l x die
MS _{II}	4,0	440
MS _{III}	1,2	780
AR _{II}	1,26	252

Wird bei unseren Patienten aus der täglichen prozentualen Zunahme markierter bzw. neugebildeter Lymphozyten (Umsatzrate) auf den Zeitpunkt 100 %iger Erneuerung geschlossen, so ergeben sich für die Gesamtpopulation **U m s a t z z e i t e n** von 25 Tagen bei MS_{II}, 80 Tagen bei AR_{II} und 83 Tagen bei MS_{III}.

Da die Gesamtlmphozyten, wie schon gezeigt wurde, aus einem kurz- und einem langlebigen Anteil bestehen, würden diese Zeiten definitionsgemäß die Werte für die **d u r c h s c h n i t t l i c h e L e b e n s d a u e r** von Lymphozyten bei den einzelnen Patienten beschreiben. Dies ist jedoch nicht der Fall, da die Bedingung eines Gleichgewichts zwischen Neubildung und Verlust von Zellen nicht gegeben ist, wie aus der starken Zunahme der peripheren Lymphozytenzahl zwischen MS_{II} und MS_{III} leicht zu ersehen ist. Für eine in Akkumulation begriffene Zellpopulation ist die Umsatzzeit nicht exakt definiert und die aus ihr abgeleitete durchschnittliche Lebensdauer der Zellen mehr oder weniger stark unter-

schätzt. Die oben genannten Zeitangaben stellen allenfalls untere Grenzen der tatsächlichen Werte dar.

Auf die gesonderte Betrachtung der einzelnen Größenklassen wird hier verzichtet, die entsprechenden Werte sind aus der Gesamttabelle zu entnehmen.

Im Gegensatz dazu ist es auch bei unseren Patienten möglich, hinreichend genaue Angaben über die Lebensdauer kurzlebiger Lymphozyten zu machen, wie im vorigen Abschnitt dargelegt wurde. Diese kurzlebigen Zellen besitzen zwar keine definierte Lebenszeit, wie etwa die Erythrozyten (7), sondern werden nach den Zufallsgesetzen aus dem Blut eliminiert, doch kann aus der Halbwertszeit ihrer Elimination eine mittlere Lebensdauer abgeleitet werden. Sie entspricht der Bluttransitzeit dieser Zellen ($T_{1/2}/\ln 2$) und beträgt 5,32 Tage bei MS_{II} , 6,47 Tage bei AR_{II} und 4,18 Tage bei MS_{III} . Diese Werte beziehen sich auf die Gesamtlymphozyten, für die mittlere Lebensdauer der großen kurzlebigen Lymphozyten werden durchwegs etwas kürzere, für die mittelgroßen und kleinen kurzlebigen Zellen etwas längere Werte gefunden (siehe Gesamttabelle).

Da aus unseren Kurven keine Halbwertszeiten für das Verschwinden der langlebigen Lymphozyten abgeleitet werden können - und die Bestimmung einer Halbwertszeit über einen sehr langen Versuchszeitraum wegen des gleichzeitigen Markierungsverlustes und der Zunahme der peripheren Zellzahl nicht sinnvoll wäre - muß versucht werden, Aussagen über die mittlere Lebensdauer langlebiger Lymphozyten über die Umsatzzeit dieser Zellen zu gewinnen. Dies erfordert definitionsgemäß eine homogene Population, d.h. die Abgrenzung dieser Subpopulation von den kurzlebigen Zellen. Für uns bedeutet das, daß sowohl Neubildungs- bzw. Umsatzrate langlebiger

Lymphozyten als auch ihr Anteil im Blut, der sich mit den neugebildeten Zellen umsetzt, gesondert bestimmt werden müssen.

Eine Möglichkeit, die tägliche Neubildungsrate langlebiger Zellen zu erfassen, bietet der Bestand an markierten langlebigen Zellen, der in unseren Versuchen nach Abstrom der kurzlebigen Zellen im Blut nachweisbar war und im Ergebnisteil beschrieben wurde. Nimmt man an, daß sich diese Zellen innerhalb von drei Tagen im Blut angesammelt haben, wie dies für die Gesamtpopulation aus der Markierungsindexkurve zu ersehen ist, so kann auf ihre tägliche Neubildungsrate geschlossen werden. Für Patient MS_{II} ergibt sich so ein täglicher Einstrom von 88 neugebildeten langlebigen Lymphozyten/ μ l Blut/Tag, für Patient AR_{II} sind es 40/ μ l Blut/Tag und für Patient MS_{III} 130/ μ l Blut/Tag. Dies entspricht einer Umsatzrate von 0,8 %/Tag bei MS_{II} bzw. 0,2 %/Tag bei AR_{II} bzw. 0,2 %/Tag bei MS_{III}.

Pat.	Umsatzrate langlebiger LZ %/die	Neubildungsrate langleb. LZ/ μ l x die
MS _{II}	0,8	88
MS _{III}	0,2	130
AR _{II}	0,2	40

Um den Umsatz einer Zellpopulation beurteilen zu können, muß neben der täglichen Neubildungsrate auch die Größe des Zellspeichers, mit dem sich die neugebildeten Zellen umsetzen, bekannt sein. Für die langlebigen Blutlymphozyten ist dies erst nach Abzug des kurzlebigen Anteils am Gesamtlymphozytenbestand

möglich. Der Bestand an kurzlebigen Lymphozyten läßt sich aus deren Neubildungsrate und mittleren Lebensdauer nach der folgenden Formel berechnen:

$$K = N_K \times T_K$$

K = absolute Anzahl kurzlebiger Zellen/ μ l Blut

N_K = Neubildungsrate kurzlebiger Zellen/ μ l/Tag (die nach Abzug der oben bestimmten Neubildungsrate langlebiger Zellen verbleibt)

T_K = mittlere Lebensdauer kurzlebiger Zellen (= Bluttransitzeit)

Pat.	Periph. LZ/	Umsatzr.	Neubild.r.	mttl. Leb.d. (Transitz.)	% Ant.	abs. Zahl
	μ l Blut	%/die	/ μ l x die	dies	%	L y m p h o z y t e n
MS _{II}	11000	3,2	352	5,32	17	1870
MS _{III}	65000	1,0	650	4,18	4,2	2710
AR _{II}	20000	1,06	212	6,47	6,8	1360

Wie aus der Tabelle entnommen werden kann, zeigt der Patient MS_{II} bei weitem den höchsten prozentualen Anteil kurzlebiger Zellen an der Gesamtpopulation. Dies entspricht den Erwartungen und kann durch die vorausgegangene therapiebedingte Reduzierung langlebiger Lymphozyten mit wesentlich geringerer Regenerationspotenz erklärt werden. Durch den gleichzeitig erhöhten Anteil großer Lymphozyten, die sehr kurze durchschnittliche Umsatzzeiten aufweisen (siehe Gesamttabelle), wird diese Annahme noch bestätigt. Obwohl bei MS_{II} kein vermehrter Einstrom großer neugebildeter Lymphozyten feststellbar ist, werden zu diesem Zeitpunkt bei der morphologischen Differen-

zierung 23 % große Lymphozyten im Blut gefunden. Der erhöhte Prozentsatz großer Lymphozyten nach depletierenden Maßnahmen muß also wohl in erster Linie auf deren raschen Umsatz zurückgeführt werden und darf nicht als eine qualitative Veränderung der Lymphozytenneubildung durch Therapie fehlgedeutet werden.

Eine weitere Tatsache wird ebenfalls aus den gezeigten Werten für den kurzlebigen Anteil an den Gesamtlymphozyten deutlich. Im Gegensatz zum Gesamtlymphozytenbestand, der zwischen MS_{II} und MS_{III} auf das 6-fache anwächst, hat sich die absolute Anzahl kurzlebiger Zellen in diesem Zeitraum nur sehr gering verändert. Dies bedeutet aber, daß die Zunahme der peripheren Lymphozytenzahl fast ausschließlich auf die Akkumulation langlebiger Lymphozyten zurückzuführen ist. Ein großer Teil der neugebildeten langlebigen Lymphozyten wird also nicht zum Ersatz von verloren gegangenen verwendet, sondern sammelt sich im Blut an. Aus diesem Grund treffen die bei den Gesamtlymphozyten gemachten Einschränkungen für diese langlebige Population in besonderem Maße zu. Für eine Zellpopulation, die sich zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht im Gleichgewicht zwischen Neubildung und Verlust von Zellen befindet, die sich also im eigentlichen Sinne nicht umsetzt, ist der aus der Neubildungsrate bestimmte Wert für die Umsatzzeit unterschätzt bzw. nicht bestimmbar. Über die m i t t l e r e L e b e n s - d a u e r l a n g l e b i g e r L y m p h o z y t e n kann also an Hand unserer Befunde lediglich ausgesagt werden, daß sie bei Patient MS mehr als 480 Tage, bei Patient AR mehr als 465 Tage beträgt.

Dies sind die "Umsatzzeiten", die sich rechnerisch aus ihren "Umsatzraten" und ihrem jeweiligen Anteil an dem Gesamtlymphozytenbestand im Blut ergeben. Die tatsächliche mittlere Lebensdauer langlebiger Lymphozyten dürfte jedoch noch über dem Wert von ca. 1000 Tagen liegen,

wie er als "Umsatzzeit" aus den Ergebnissen bei MS_I und AR_I (30) geschätzt werden kann.

Pat,	Umsatzrate	% Anteil	"Umsatzzeit"
	L a n g l e b i g e r L y m p h o z y t e n		
		im Blut	
	%/die		dies
MS _{II}	0,8	83 %	104
MS _{III}	0,2	95,8 %	480
AR _{II}	0,2	93,2 %	465

Alle bisher erarbeiteten umsatzkinetischen Daten werden noch einmal in der Gesamttabelle dargestellt und um die entsprechenden Befunde für die einzelnen Größenklassen ergänzt. Kurz zusammengefaßt läßt sich daraus der Lymphozytenumsatz bei den von uns untersuchten Patienten folgendermaßen charakterisieren:

Patient AR zeigt nach Therapie eine Neubildungsrate von 252 Blutlymphozyten/ μ l Blut/Tag, bei Patient MS läßt sich ein täglicher Einstrom von 440 Zellen nach Therapie und 780 Zellen neun Monate später errechnen. Der größte Teil dieser neugebildeten Zellen ist kurzlebig mit einer mittleren Lebensdauer von 4 bis 6,5 Tagen und hält einen relativ konstanten Spiegel von 1500 kurzlebigen Zellen/ μ l bei Patient AR und 2000 bis 3000 Zellen/ μ l bei Patient MS im Blut aufrecht. Für die restlichen 15 bis 20 % der täglich neugebildeten Blutlymphozyten muß eine sehr lange mittlere Lebensdauer vermutet werden, da sie offensichtlich für das ständige Ansteigen der peripheren Lymphozytenzahlen verantwortlich zu machen sind. In den bei uns untersuchten Zeiträumen dürfte die Neubildung lang-

Gesamt - Tabelle	Periphere LZ	"Umsatzrate" = Anstiegsrate		Neubildungsrate = Einstromrate		"Umsatzzeit" Ø mittlere		% kurzleb. LZ im Blut	kurzleb. LZ/µl Blut
		gesamt langlebig kurzlebig		gesamt langlebig kurzlebig		gesamt langlebig kurzlebig (Pluttransitzeit)			
		% /die		Zellen/µl x die		dies			
Patient MS II	Gesamtpopulation 11 000	4,0	0,8 3,2	440	88 352	25	104 5,32	17,00 %	1870
	kleine LZ	0,8	0,7 0,1	26	23 3	125	140 8,05	0,80 %	
	mttl.gr. LZ	2,8	0,9 1,9	161	55 106	36	94 8,05	15,30 %	
	große LZ	10,0	0,33 9,67	253	10 243	10	186 3,75	38,30 %	
Patient MS III	Gesamtpopulation 65 000	1,2	0,2 1,0	780	130 650	83	480 4,18	4,20 %	2710
	kleine LZ	0,13	0,08 0,05	30	23 7	769	1240 6,9	0,35 %	
	mttl.gr. LZ	0,6	0,2 0,4	205	85 120	167	490 3,6	1,44 %	
	große LZ	6,0	0,22 5,78	545	22 523	16,6360	3,6	20,80 %	
Patient AR II	Gesamtpopulation 20 000	1,26	0,2 1,06	252	40 212	80	465 6,47	6,80 %	1360
	kleine LZ	0,38	0,2 0,18	9	5 4	260	510 8,0	1,50 %	
	mttl.gr. LZ	0,4	0,23 0,17	43	25 18	250	435 8,0	1,50 %	
	große LZ	3,16	0,16 3,0	200	10 190	32	540 5,2	16,00 %	

lebiger Lymphozyten deren Verlust weit übersteigen, d.h. diese Zellen akkumulieren. Dementsprechend stellen die langlebigen Lymphozyten mit ca. 95 % die Hauptmasse aller Blutlymphozyten, lediglich bei Patient MS_{II} konnte ihr Anteil durch depletierende Maßnahmen vorübergehend auf ca. 83 % gesenkt werden.

Wegen ihres hohen Anteils an kurzlebigen Zellen sind die großen Lymphozyten sehr stark am Gesamtumsatz beteiligt, wobei jedoch ihr Bestand im Blut relativ gering ist. Im Gegensatz dazu führt der hohe Anteil langlebiger Zellen bei den kleinen und mittelgroßen Lymphozyten bei geringer Beteiligung am Gesamtumsatz zu einer massiven Ansammlung dieser Zellen im Blut. Bei einer vollentwickelten Lymphadenose mit sehr hohen peripheren Lymphozytenzahlen werden deshalb fast ausschließlich kleine und mittelgroße Lymphozyten im Blut und in den Organen nachgewiesen (7, 30). Daß die Einteilung in Größenklassen keine absolute umsatzkinetische Klassifizierung beinhaltet, kann jedoch an Hand unserer Ergebnisse gezeigt werden. So führt ein minimaler Einstrom großer langlebiger Lymphozyten mit zunehmender Akkumulation zu einem Überwiegen dieser Zellen in der Klasse der großen Blutlymphozyten bei beiden Patienten.

Um einen Gesamtüberblick über die Umsatzkinetik der Blutlymphozyten bei unseren Patienten zu gewinnen und um die Voraussetzungen für den folgenden Vergleich zu schaffen, müssen unseren Befunden noch die Ergebnisse der Untersuchungen vor Therapie gegenübergestellt werden (30). Bei diesen von THEML et al. durchgeführten Umsatzbestimmungen wurde unter 7-tägiger Dauerinfusion von ³H-Thymidin bei den einzelnen Patienten ein sehr ähnliches Verhalten der markierten neugebildeten Lymphozyten nachgewiesen, was deren Zusammensetzung und Lebensdauer betrifft.

Die gefundenen Neubildungsraten werden in folgender
Kurztablelle zusammengefaßt:

Pat.	Gesamtneubild. rate/ µl x die	Neubildungsrate langlebiger LZ/ µl x die	Neubildungsrate kurzlebiger LZ/ µl x die
MS _I	690	140	550
AR _I	725	110	615

V e r g l e i c h d e r N e u b i l d u n g s r a t e n
von Blutlymphozyten bei Patient MS und Patient AR in den
verschiedenen Untersuchungszeiträumen.

Betrachtet man die in der Gesamttabelle angegebenen Neubildungsraten und die entsprechenden Werte, wie sie vor Therapie ermittelt wurden, so findet man nicht nur einen stark verminderten Einstrom neugebildeter Zellen nach Cytostaticatherapie und Milzbestrahlung bei Patient AR, sondern ebenfalls eine vorübergehend reduzierte Neuproduktion beim Patienten MS nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes. Dies ist ein Befund, der sich mit der bekannten Wirkungsweise der ECIB nicht ohne weiteres vereinbaren läßt. Es erscheint uns deshalb notwendig, bevor die bei verschiedenen peripheren Lymphozytenzahlen ermittelten Neubildungsraten miteinander verglichen werden, um Aufschlüsse über therapiebedingte oder therapieunabhängige Änderungen der Neuproduktion zu gewinnen, einige Überlegungen bezüglich ihrer Vergleichbarkeit anzustellen.

Wie schon seit längerem bekannt ist, stellen die von uns beobachteten zirkulierenden Blutlymphozyten weder beim Normalpatienten noch bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie ein geschlossenes Kompartiment dar, sondern stehen im freiem Austausch mit einem größeren Zellspeicher (10, 11, 12, 22, 27, 28), der im folgenden als leicht austauschbarer Lymphozytenspeicher (LALS) bezeichnet werden soll. Obwohl dieser Zellspeicher bis jetzt noch nicht anatomisch exakt definiert werden konnte, ist seine Größe mit geeigneten Methoden hinreichend genau bestimmbar. Eine dieser Methoden stellt die Retransfusion von autologen in vitro mit ^3H -Cytidin markierten Blutlymphozyten dar. MANASTER (22) hat neben anderen qualitativen Untersuchungen der Rezirkulation eine solche Zellspeicher-

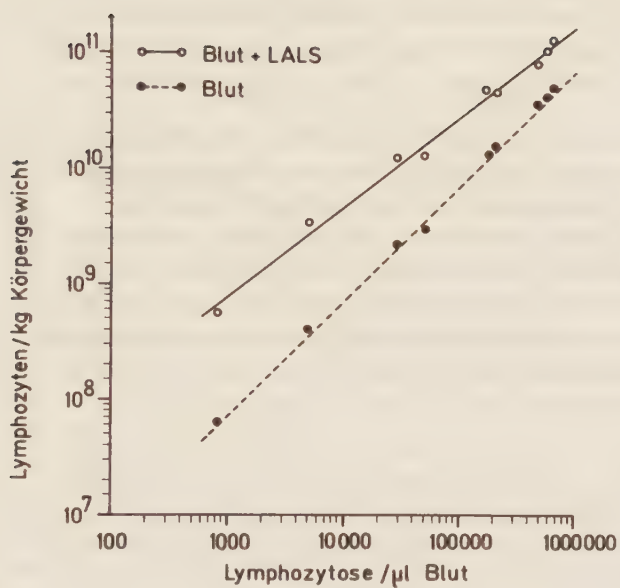


Abb. 11 Abhängigkeit der absoluten Anzahl von Lymphozyten pro kg Körpergewicht im gesamten LALS bzw. im zirkulierenden Blut von der peripheren Lymphzytenzahl.

Nach MANASTER et al. (22)

analyse mittels Retransfusion bei 7 Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie durchgeführt und fand wie andere Autoren (12) sehr unterschiedliche Werte für die Größe des LALS. Zugleich aber konnte er eine Abhängigkeit zwischen LALS und peripherer Lymphozytenzahl feststellen, die aus Abb. 11 zu entnehmen ist.

Der im Gegensatz zu den Blutlymphozyten flachere Anstieg des gesamten LALS zeigt, daß die Größe dieses Speichers bei höheren peripheren Lymphozytenzahlen ebenfalls zunimmt, jedoch nicht im gleichen Maße wie der zirkulierende Lymphozytenspeicher. Der Quotient zwischen diesen beiden Speichergrößen ist also variabel, er nimmt entsprechend dem höheren Anteil zirkulierender Zellen am Gesamtspeicher bei steigender Lymphozytenzahl ständig ab.

Bei Kenntnis dieser Zusammenhänge haben wir an Hand der gezeigten Kurve die Möglichkeit, die bei den verschiedenen peripheren Lymphozytenzahlen von uns im zirkulierenden Blut gefundenen Einstromraten neugebildeter Zellen auf den gesamten mit diesem Kompartiment in freiem Austausch befindlichen Zellspeicher umzurechnen. Dies erscheint uns die geeignetste Methode, Neubildungsraten für ein sich änderndes Zellkompartiment zu vergleichen, wenn wiederum nur eine variable Teilkomponente dieses Kompartiments, in unserem Fall die zirkulierenden Blutlymphozyten, erfaßt werden kann. Würde man das variable Verhältnis zwischen dem untersuchten zirkulierenden Speicher und dem gesamten LALS, in dem sich die neugebildeten Lymphozyten tatsächlich verteilen (= Speicherfaktor = SF), nicht berücksichtigen, so würde das zu einer relativen Unterschätzung der Neubildungsrate dieser Zellen bei niedrigen peripheren Lymphozytenzahlen und zu einer relativen Überschätzung bei hohen peripheren Lymphozytenzahlen führen. Entsprechend der in unseren Versuchen beobachteten Lymphozytose und den

oben dargestellten von MANASTER gefundenen Beziehungen wurde der LALS bei MS_I 3,8 mal, bei MS_{II} 6,5 mal, bei MS_{III} 4,2 mal, bei AR_I 3,8 mal und bei AR_{II} 5,7 mal größer als der zirkulierende Speicher angenommen.

Vergleich der Neubildungsrate von Blutlymphozyten bei Patient MS und Patient AR vor und nach Therapie

Unter Berücksichtigung der jeweiligen Blutvolumina und unter Verwendung der oben genannten Speicherfaktoren ergeben sich für beide Patienten vor Therapie vergleichbare Neubildungsraten von $11,6 \times 10^9$ Zellen/Tag bei Patient MS_I bzw. $12,4 \times 10^9$ Zellen/Tag bei Patient AR_I im gesamten LALS. Diese Neubildungsrate wird bei dem Patienten MS_{II} nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes mit $12,5 \times 10^9$ Zellen/Tag nur gering verändert gefunden. Dagegen ist beim Patienten AR_{II} nach Therapie auch unter Berücksichtigung des größeren Speicherfaktors die Neubildungsrate deutlich auf $6,1 \times 10^9$ Zellen/Tag erniedrigt. Dieser Patient erhielt zwischen den beiden Umsatzbestimmungen über einen längeren Zeitraum Chlorambucil kombiniert mit einem Cortisonpräparat (Fluocortolon), außerdem wurde eine Milzbestrahlung über 30 Tage mit 740 RMD durchgeführt.

Da nicht mit absoluter Sicherheit angenommen werden kann, daß sich alle Zellen im LALS verteilen, soll dieser Vergleich noch einmal für die langlebigen Zellen gesondert durchgeführt werden. $2,2 \times 10^9$ neugebildeten langlebigen Zellen/Tag bei MS_I steht hier eine ebenfalls nahezu unveränderte Neubildungsrate von $2,5 \times 10^9$ Zellen/Tag bei MS_{II} nach Therapie gegenüber. Dagegen ist beim Patienten AR ebenfalls eine deutliche Abnahme der Neubildung langlebiger Zellen von $1,8 \times 10^9$ Zellen/Tag auf $1,0 \times 10^9$ Zellen/Tag nach Therapie feststellbar. Dies

entspricht einer Reduktion um 45 % gegenüber dem ursprünglichen Wert.

Vergleich der Neubildungsraten bei Patient MS vor Therapie, nach Therapie und im Rezidiv

Die von uns gefundenen ähnlichen Neubildungsraten vor und nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes beim Patienten MS schließen eine therapieunabhängige zeitliche Änderung der Neuproduktion nicht aus, da sie in sehr geringem Abstand ermittelt wurden. Deshalb wurde ca. neun Monate später eine weitere Umsatzbestimmung durchgeführt. Werden die Ergebnisse dieser Untersuchung in gleicher Weise auf den gesamten LALS umgerechnet, so ergibt sich ein täglicher Einstrom neugebildeter Zellen von $12,5 \times 10^9$, davon sind $2,1 \times 10^9$ langlebig. Gegenüber den oben dargelegten Werten bei MS_I und MS_{II} bedeutet dies eine unveränderte Neubildung von Blutlymphozyten.

Überblick über die Neubildung von Blutlymphozyten bei Patient MS und Patient AR

Zusammenfassend kommt man an Hand der oben durchgeführten Vergleiche zu folgenden Feststellungen:

1. Der Patient MS mit chronischer lymphatischer Leukämie, dessen Lymphozytose durch extrakorporale Bestrahlung des Blutes von 120 000 Lymphozyten/ μ l auf ca. ein Zehntel gesenkt wurde, wies innerhalb eines Jahres weder eine therapieabhängige noch eine therapieunabhängige erkennbare Änderung seiner Neuproduktion an Blutlymphozyten auf.
2. Demgegenüber war bei dem Patienten AR nach längerer Einnahme von Cytostatica und Cortisonpräparaten, sowie Bestrahlung der Milz, eine deutliche Abnahme der täglichen Blutlymphozytenneubildung festzustellen. Diese Abnahme ist als therapiebedingt anzusehen und entspricht der bisher bekannten Wirkungsweise der angewandten therapeutischen Maßnahmen. Während durch die extrakorporale Bestrahlung des Blutes fast ausschließlich Ruhezellen erfaßt werden, ist zumindest für Cytostatica und Milzbestrahlung darüberhinaus eine hemmende Wirkung auf das proliferierende Zellsystem bzw. einen Teil desselben zu erwarten. Obwohl das proliferierende Zellsystem im eigentlichen Sinne durch die von uns gewählte Methode nicht untersucht werden kann, sind die Auswirkungen einer gestörten Zellproduktion an Hand einer verminderten Neubildungsrate von Blutlymphozyten deutlich erkennbar.

Gesamtbeurteilung der umsatz- kinetischen Daten und Analyse der zunehmenden Blutlymphozytose

Die bisher beschriebenen und diskutierten Daten, die bei zwei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie gewonnen wurden, gaben uns die Möglichkeit, den Lymphozytenumsatz im Blut bei diesen Patienten zu beurteilen. Außerdem wurden wichtige Aufschlüsse über Therapiewirkungen und zeitliche Entwicklung der Blutlymphozytenproduktion gewonnen. Wie eingangs bereits erwähnt, wäre eine umfassende Darstellung der umsatzkinetischen Gesamtsituation von Blutlymphozyten nicht vollständig, ohne die experimentell gewonnenen Daten an Hand der beobachteten Entwicklung der peripheren Blutlymphozyten zu überprüfen und die entscheidenden Mechanismen, die zur zunehmenden Lymphozytose führen, aufzuzeigen.

Ausgehend vom Vergleich mit den Verhältnissen beim Normalpatienten soll deshalb abschließend von der Norm abweichendes Verhalten dargestellt und diskutiert, sowie an Hand eines Modells unter Verwendung der von uns ermittelten Daten und Zusammenhänge die Zunahme der peripheren Lymphozytenzahlen sichtbar gemacht werden (siehe Anhang).

Wenngleich mit der von uns verwendeten Methode keine direkte Beurteilung der Proliferation in den lymphatischen Organen möglich ist, kann doch bei unseren Patienten an Hand der Einstromrate ein gegenüber Tumorpatienten um ca. das Zehnfache erhöhter konstanter Ausstoß langlebiger Blutlymphozyten in den gesamten LALS gemessen werden. Dieser Wert ergibt sich aus dem Vergleich zwischen der von uns gewonnenen Neubildungs-

rate von ca. 2×10^9 Lymphozyten/Tag bei dem 60 kg schweren Patienten MS und einer täglichen Neubildungsrate von 1,8 bis $3,2 \times 10^6$ Lymphozyten/kg Körpergewicht, wie sie für Tumorpatienten ermittelt wurde (24). Der Stellenwert, den diese gesteigerte Neubildung von Blutlymphozyten innerhalb der Gesamtentwicklung der Lymphozytose einnimmt, soll durch folgende Überlegung verdeutlicht werden:

Ein gegenüber dem Normalen um das Zehnfache gesteigerter Einstrom von neugebildeten Zellen würde, ungestörte Verteilung und Rezirkulation im lymphatischen System sowie normale Lebensdauer der Zellen vorausgesetzt, zu einem Blutzellspiegel führen, der ebenfalls um das Zehnfache erhöht ist. Die entsprechende Lymphozytose von ca. 25 000 Lymphozyten/ μ l wird jedoch sowohl bei unseren Patienten als auch bei der chronischen lymphatischen Leukämie im allgemeinen überschritten.

Als weiterer wichtiger Faktor muß deshalb eine gestörte Verteilung bzw. Rezirkulation in das Krankheitsgeschehen einbezogen werden. Messungen des Lymphozytenausstosses über den Ductus thoracicus (8, 9) und migrationskinetische Untersuchungen mittels Retransfusion (25) bzw. Untersuchungen, die diese Methoden kombinieren (12), haben eine gestörte Rezirkulation bei der chronischen lymphatischen Leukämie wahrscheinlich gemacht. Ob dieser Defekt auf Höhe der postkapillären Venolen angenommen werden muß, wo eine funktionelle Störung der leukämischen Zellen oder der Gefäßwände das Austreten der Lymphozyten aus dem Gefäßsystem verhindert, oder ob bei qualitativ ungestörtem Durchtritt durch die postkapillären Venolen, wie sie MANASTER et al. (22) durch elektronenmikroskopische Untersuchungen in CLL-Lymphknoten annimmt, die Rezirkulationsstörung an einer anderen Stelle vermutet werden muß, kann derzeit noch nicht entschieden werden. Für die Entwicklung der Akkumulation der Lymphozyten spielt auf jeden

Fall die im Verhältnis zum zirkulierenden Blut gegenüber dem Normalen relativ verminderte Größe des LALS und die mit steigender Lymphozytenzahl überproportionale Ausdehnung des zirkulierenden Speichers eine wichtige Rolle. Dieser Tatsache wurde bei der Bestimmung der gesamten Blutlymphozytenneubildung von uns bereits Rechnung getragen.

Wird diese gestörte Verteilung der Blutlymphozyten in die oben angestellten Überlegungen mit einbezogen, so kommt man zu folgenden Ergebnissen:

Bei gleichbleibend um das Zehnfache erhöhter Neuproduktion von Blutlymphozyten würde sich unter Berücksichtigung der entsprechenden Speicherfaktoren (Abb. 11) im Blut ein Lymphozytenspiegel von ca. 200 000/ μ l einstellen, wenn man für die langlebigen Zellen die sehr hohe für normale Lymphozyten beschriebene mittlere Lebensdauer von 1100 Tagen annimmt (24). Dieser Wert wird in dem von uns beobachteten Zeitraum weder bei Patient MS noch bei Patient AR erreicht. Eine stark verlängerte Lebensdauer leukämischer Zellen, wie sie von vielen Autoren beschrieben wird (3, 13, 17, 18, 28, 34), ist deshalb aus der Höhe der Lymphozytose nicht von vornherein zu ersehen.

Einen gewissen Hinweis darauf bietet jedoch die von uns beobachtete Geschwindigkeit der Akkumulation. Überprüft man den Anstieg der peripheren Lymphozytenzahlen an Hand der von uns errechneten Neubildungsrate bei Patient MS, so stellt man fest, daß im Zeitraum zwischen dem zweiten und dritten Versuch gerade etwa soviel langlebige Lymphozyten gebildet wurden, wie deren Anzahl im gesamten LALS zugenommen hat.

Zunahme der Gesamtlymphozyten im gesamten LALS (= LALS + Blut)

Bestand

$$\text{MS}_{\text{II}}: 11\,000 \text{ L./}\mu\text{l} \times 10^6 \times 4,21 \text{ (RV)} \times 6,5 \text{ (SF)} = \\ 0,31 \times 10^{12} \text{ Lymphozyten}$$

Bestand

$$\text{MS}_{\text{III}}: 65\,000 \text{ L./}\mu\text{l} \times 10^6 \times 3,81 \text{ (RV)} \times 4,2 \text{ (SF)} = \\ 1,00 \times 10^{12} \text{ Lymphozyten}$$

$$\text{Zunahme: MS}_{\text{III}} - \text{MS}_{\text{II}} = \underline{0,69 \times 10^{12}} \text{ Lymphozyten}$$

Neuproduktion im gesamten LALS

$$2,5 \times 10^9 \text{ Lymph./Tag} \times 264 \text{ Tage} = \underline{0,66 \times 10^{12}} \text{ Lymphozyten}$$

Dieses Ergebnis stellt einerseits eine gute Bestätigung der von uns ermittelten Neubildungsrate dar, andererseits zeigt es, daß, wenn die Zunahme der kurzlebigen Zellen wie bereits beschrieben vernachlässigt werden kann, praktisch alle neugebildeten langlebigen Zellen zum Zeitpunkt der dritten Umsatzuntersuchung noch nachweisbar sind. Dies schließt aber einen stärkeren Abstrom neugebildeter langlebiger Zellen aus. Als dritter wirk-samer Faktor für die Akkumulation von Blutlymphozyten kann also auch bei uns eine verlängerte Lebensdauer der langlebigen Zellen zumindest vermutet werden. Eine exakte Bestimmung dieser Lebensdauer wäre allerdings mit unserer Methode nur möglich, wenn Umsatzbestimmungen bei einem gleichbleibenden Lymphozytenspiegel im Blut, also bei einem Gleichgewicht zwischen Neubildung und Elimination durchgeführt würden. Diese Bedingung war in unserem Fall nicht gegeben.

Zusammenfassend konnten also bei unseren Patienten

Hinweise auf drei wirksame Faktoren für die Zunahme der peripheren Lymphozyten gewonnen werden:

1. Eine auf das Zehnfache gesteigerte Neubildung von Blutlymphozyten.
2. Gestörte Verteilung und Rezirkulation der neugebildeten Zellen.
3. Verlängerte Lebensdauer eines Teils dieser Zellen.

Diese drei Punkte weisen die abnorme Entwicklung der Blutzellzahl bei der chronischen lymphatischen Leukämie als akkumulative Störung auf dem Boden einer konstant erhöhten Neuproduktion aus.

Durch die "Längsschnittuntersuchung" bei Patient MS können zwei dieser Faktoren, nämlich der Einstrom neugebildeter Zellen und deren Verteilung in den Blutlymphozytenspeichern zeitlich erfaßt werden und geben so die Möglichkeit für den beobachteten Zeitraum ein Modell für die Entwicklung der Blutlymphozytenzahl zu entwerfen. Im Anhang wird ein solches Modell unter Verwendung der von uns ermittelten Daten und der von MANASTER beschriebenen Zusammenhänge entwickelt und mathematisch definiert. Dabei kann gezeigt werden, daß sowohl Art (nicht linearer Anstieg) als auch Umfang der tatsächlich beobachteten Lymphozytenakkumulation auf den von uns ermittelten konstanten Einstrom langlebiger Blutzellen zurückzuführen ist.

Für eine umsatzkinetisch nicht erfaßte Ausdehnung der Neuproduktion oder vorübergehende Proliferationshemmung nach Therapie ergab sich bei diesem Patienten auch von Seiten der peripheren Lymphozytenzahl kein Anhalt. Der zunehmend steilere Anstieg der Blutzellzahl nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes ist

nach unserem Modell überwiegend auf Verteilungsphänomene innerhalb der entleerten Blutzellspeicher zurückzuführen. Eine exponentielle Zunahme, wie sie für andere Patienten beschrieben wird (19, 28), kann bei diesem Patienten mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Aus umsatzkinetischer Sicht sind die von uns untersuchten Patienten insgesamt günstig zu beurteilen. Mit ihrem vergleichsweise hohen Anteil an kurzlebigen Zellen an der gleichbleibenden bzw. therapeutisch reduzierten Gesamtproduktion von Blutlymphozyten und ihrem prompten Ansprechen auf die durchgeführten Therapiemaßnahmen sind sie in die Gruppe der Lymphadenosen mit relativ guter Prognose einzuordnen.

In bezug auf seine Reaktion auf extrakorporale Bestrahlung des Blutes wäre der Patient MS nach BEGEMANN (6) als Typ I zu klassifizieren. Diese Annahme wird gestützt durch die relativ geringe Beeinträchtigung der übrigen Blutzellsysteme, wie sie aus den hämatologischen Werten entnommen werden kann, und findet letztlich ihre Bestätigung in der überdurchschnittlichen Überlebenszeit dieses Patienten.

ANHANG

Der Anstieg der peripheren Lymphozytenzahlen nach depletierenden Maßnahmen bei chronischer lymphatischer Leukämie verläuft in der Regel nicht linear (6, 19, 28), sondern ist anfangs durch eine flachere dann steiler werdende Aufwärtsbewegung gekennzeichnet, wie dies auch bei unseren Patienten aus Abb. 1 zu ersehen ist. Er wird von vielen Autoren als exponentieller Anstieg beschrieben (19, 28). Diese Bezeichnung ist mit unseren Befunden unvereinbar. Sie läßt an ein tumorspezifisches Wachstum mit ständiger Zunahme proliferierender Zellen, ausgedrückt durch eine Verdoppelungszeit denken; zumindest muß eine exponentiell ansteigende Neuproduktion von Blutlymphozyten vermutet werden. Dies widerspricht jedoch nicht nur dem bei uns gefundenen Verhalten der Neubildungsraten sondern auch den bisher gültigen pathophysiologischen Vorstellungen von der chronischen lymphatischen Leukämie als vorwiegend akkumulative Störung auf dem Boden einer erhöhten Produktion reifer Blutzellen. Obwohl ein einheitliches pathogenetisches Konzept nicht gefunden wurde und wahrscheinlich auch nicht besteht, weist die chronische lymphatische Leukämie in den meisten Fällen eher die Merkmale einer Systemhyperplasie als eines Tumors auf. Unter Berücksichtigung der von uns gefundenen konstanten Neubildungsraten für Blutlymphozyten muß deshalb eine andere Deutung für den nicht linearen Anstieg dieser Zellen im Blut gesucht werden. Eine gute Erklärung dafür bietet die bereits beschriebene unterschiedliche Ausdehnung von LALS und zirkulierendem Speicher bei steigender Lymphozytenzahl. Ausgehend von der von MANASTER dargestellten Beziehung zwischen peripherer Lymphozytenzahl und Größe des LALS haben wir versucht, ein Modell für die numerische Entwicklung langlebiger Zellen im peripheren Blut beim

Patienten MS nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes zu erarbeiten und die Form des Anstiegs mathematisch zu definieren.

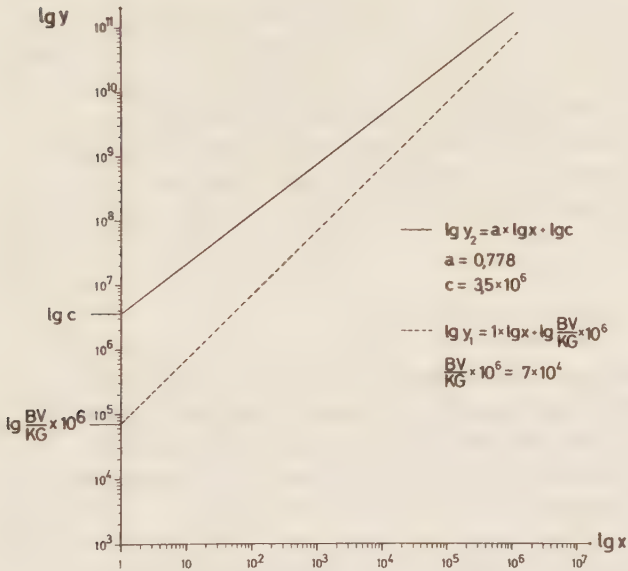


Abb. 12

———— = Gesamter LALS

----- = zirkulierender Blutspeicher

Abhängigkeit der absoluten Anzahl Lymph./kg Körpergewicht von der im Blut pro μ l gefundenen peripheren Lymphozytenzahl (doppellogarithmisches Koordinatensystem) nach MANASTER

Die Umrechnung der peripheren Lymphozytenzahl im Blut auf den zirkulierenden Blutlymphozytenspeicher/kg Körpergewicht (-----) erfolgt durch die folgende ein-

einfache Formel:

$$\text{I.a)} \quad y_1 = x \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6$$

y_1 = Anzahl der Lymph. im
zirk. Speicher/kgKG

x = periphere Lymph.zahl/
 μl Blut

BV = Blutvolumen

KG = Körpergewicht

Dies entspricht einer einfachen linearen Abhängigkeit.

Im doppellogarithmischen Koordinatensystem (Abb. 12) wird sie entsprechend durch eine Gerade mit der Steigung 1 (= Winkel von 45°) und dem y-Achsenabschnitt $\lg \frac{BV}{KG} \cdot 10^6$ ausgedrückt:

$$\text{I.b)} \quad \lg y_1 = 1 \cdot \lg x + \lg \frac{BV}{KG} \cdot 10^6$$

In gleicher Weise kann die in Abb. 12 dargestellte Abhängigkeit zwischen der Anzahl der Lymphozyten im gesamten LALS/kg Körpergewicht und der peripheren Lymphozytenzahl als eine Gerade mit der Steigung a und dem y-Achsenabschnitt $\lg c$ beschrieben werden.

$$\text{II.b)} \quad \lg y_2 = a \cdot \lg x + \lg c \quad y_2 = \text{Lymphozyten im LALS/} \\ \text{kg Körpergewicht}$$

Die Gleichung de logarithmiert:

$$\text{II.a)} \quad y_2 = x^a \cdot c$$

Für $\frac{BV}{KG} \cdot 10^6$ läßt sich aus Abb. 12 ein Wert von $7 \cdot 10^4$ ablesen (y_1 -Achsenabschnitt), d.h. das Blutvolumen beträgt durchschnittlich 7 % des Körpergewichts. Dieser Wert wird als grobe Schätzung des Blutvolumens auch von anderen Autoren angegeben (7). c kann aus der Kurve mit $3,5 \cdot 10^6$, die Steigung a mit 0,778 entnommen werden.

Damit ergibt sich für die Gleichungen I und II:

$$\text{I.) } y_1 = x \cdot 7 \cdot 10^4$$

$$\text{II.) } y_2 = x^{0,778} \cdot 3,5 \cdot 10^6$$

Überträgt man Abb. 12 mittels dieser Gleichungen in ein lineares Koordinatensystem, so ergeben sich zwei Kurven, die in Abb. 13 dargestellt sind.

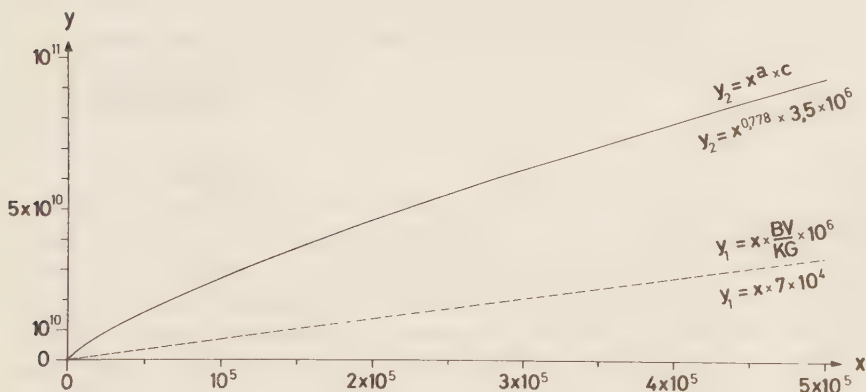


Abb. 13 ————— = Gesamter LALS

- - - - - = zirkulierender Blutspeicher

Abhängigkeit der absoluten Anzahl
Lymph./kg KG von der im Blut pro μ l
gefundenen peripheren Lymphozytenzahl
(lineares Koordinatensystem)

Diese lineare Darstellungsweise läßt die gegebenen Zusammenhänge leichter erkennen. Mit der Zunahme der peripheren Lymphozytenzahlen dehnt sich der gesamte LALS nicht in gleicher Weise aus, seine Kapazität scheint in weit stärkerem Maße begrenzt zu sein als die des zirkulierenden Blutes. Das Verhältnis zwischen gesamten LALS und Blut (= Speicherfaktor SF) nimmt mit steigender Lymphozyten-

zahl ab. Es ist mathematisch durch folgende Formel definiert:

$$SF(x) = \frac{y_2}{y_1} = \frac{x^a \cdot c}{x \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6} \quad \text{oder}$$

$$SF(x) = \frac{y_2}{y_1} = \frac{1}{x^{1-a}} \cdot \frac{c}{\frac{BV}{KG} \cdot 10^6} \quad (a < 1)$$

$$\text{III.) } SF(x) = \frac{50}{x^{0,222}} \quad \text{siehe Abb. 14}$$

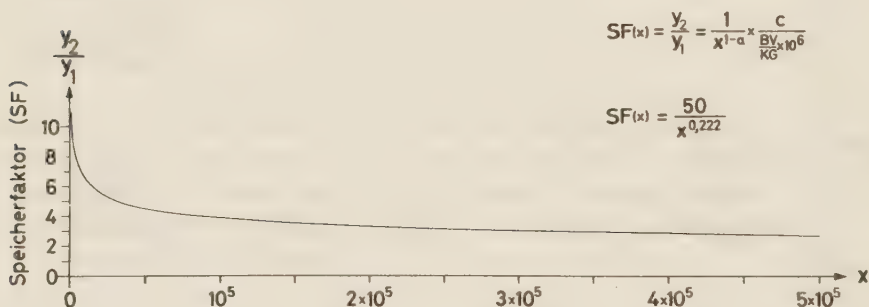


Abb. 14 Größe des Speicherfaktors (SF) in Abhängigkeit von der peripheren Lymphozytenzahl/ μ l Blut (x).

Die in Abb. 14 gezeigte Kurve nähert sich asymptotisch den beiden Koordinaten und besitzt dementsprechend die mathematischen Grenzwerte 0 und ∞ . Die biologischen Grenzwerte sind dagegen wesentlich enger, sie werden einerseits von der gerade noch meßbaren Lymphozytenkonzentration im Blut und andererseits von der höchsten

Lymphozytose bestimmt, die von den einzelnen Patienten erreicht wird. Diese wiederum hängt von zahlreichen individuellen Faktoren ab, wie z.B. Neubildungsrate und mittlere Lebensdauer der leukämischen Zellen, bei Annahme einer unendlich langen Lebensdauer von der begrenzten Aufnahmekapazität des Gefäßsystems, bzw. von der Lymphozytenzahl, die mit dem Leben nicht mehr vereinbar ist.

Bei einer Blutzellkonzentration von 1 Zelle/ μ l Blut ist ein Speicherfaktor von 50 anzunehmen, ein Speicherfaktor von 1, bei dem also nur noch Zellen im zirkulierenden Blut vorhanden sind, wird auf Grund der oben genannten Faktoren nicht erreicht. Er würde eine theoretische Lymphozytose von ca. 50 Millionen Zellen/ μ l Blut erfordern.

Die oben dargestellte mathematisch definierte Beziehung zwischen LALS und Blutlymphozytenspeicher bei verschiedenen peripheren Lymphozytenzahlen ermöglicht nicht nur die Umrechnung einzelner Speichergrößen, sondern bietet darüberhinaus die Möglichkeit, aus der zeitlichen Änderung eines Speichers die gleichzeitige Entwicklung des anderen Speichers abzuleiten.

Setzt man z.B. einen konstanten Einstrom von langlebigen Lymphozyten in den gesamten LALS voraus, wie er von uns bei Patient MS gefunden wurde, so kann folgende zeitliche Veränderung des gesamten LALS angenommen werden:

Änderung der Zellzahl = Einstromrate - Eliminationsrate

$$\frac{dy_2}{dt} = E_{LALS} - y_2 \cdot$$

$$E_{LALS} = \text{Einstromrate in den gesamten LALS/kg KG} \\ = E_{Blut} \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6 \cdot SF_E$$

SF_E = Speicherfaktor zum Zeitpunkt der Umsatzbestimmung

Die allgemeine Lösung dieser Differentialgleichung ist:

$$y_2(t) = E_{LALS} \cdot \frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \quad \lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} = \frac{1}{\text{Transitzeit (T)}}$$

Aus der Randbedingung $y_2(0) = 0$

folgt: $c = 1$

Die Entwicklung des LALS bei einer konstanten Einstromrate neugebildeter Zellen und gleichzeitigem exponentiellem Abstrom, der durch die mittlere Lebensdauer der Zellen ($= \text{Transitzeit} = \frac{1}{\lambda}$) bedingt ist, wird also exakt durch folgende Funktion beschrieben:

$$\text{IV.) } y_2(t) = E_{LALS} \cdot \frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t})$$

Ist jedoch wie in unserem Fall die mittlere Lebensdauer der langlebigen Zellen sehr groß im Vergleich zum beobachteten Zeitraum, so kann in erster Näherung ein linearer Anstieg der Lymphozytenzahl angenommen, d.h. die Elimination von Zellen in diesem Zeitraum vernachlässigt werden. Mathematisch läßt sich bei $T \gg t$, also $\lambda t \ll 1$ die e-Funktion entwickeln und nach dem linearen Glied abbrechen:

$$e^{-\lambda t} \approx 1 - \lambda t$$

In IV.) eingesetzt ergibt sich also:

$$\text{V.) } y_2(t) = E_{LALS} \cdot t \quad \text{oder}$$

$$\text{V.) } y_2(t) = E_{\text{Blut}} \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6 \cdot SF_E \cdot t$$

Aus dieser Funktion kann über die Größe des Speicherfaktors auf die zeitliche Änderung der peripheren Anzahl lang-

lebiger Zellen im Blut ($x(t)$) geschlossen werden:

$$\frac{y_2}{y_1} = SF \quad \frac{y_2(t)}{y_1(t)} = SF(t)$$

$$\frac{E_{\text{Blut}} \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6 \cdot SF_E \cdot t}{x(t) \cdot \frac{BV}{KG} \cdot 10^6} = \frac{50}{x(t)^{1-a}}$$

$$x(t) = \left[\frac{E_{\text{Blut}}}{50} \cdot SF_E \cdot t \right]^{\frac{1}{a}}$$

VI.)

$$x(t) = \left[\frac{E_{\text{Blut}}}{50} \cdot SF_E \cdot t \right]^{1,285}$$

Diese Funktion gibt die zeitliche Entwicklung der Anzahl langlebiger Lymphozyten/ μ l Blut wieder und gilt für alle Fälle, in denen ein konstanter Einstrom langlebiger Zellen in den LALS angenommen werden kann.

Wird die von uns bei Patient MS_{II} gefundene Einstromrate von 88 langlebigen Lymphozyten/ μ l Blut/Tag und der entsprechende Speicherfaktor zur Zeit der Umsatzbestimmung von 6,5 eingesetzt, so ergibt sich folgende Entwicklung der peripheren Lymphozytenzahl, die in Abb. 15 dargestellt ist. (Die kurzlebigen Zellen sind dabei nicht berücksichtigt, da sie an der Akkumulation nicht teilnehmen).

$$x(t) = \left[\frac{576}{50} \cdot t \right]^{1,285}$$

$$VI_{MS}) \quad x(t) = 23,12 \cdot t^{1,285}$$

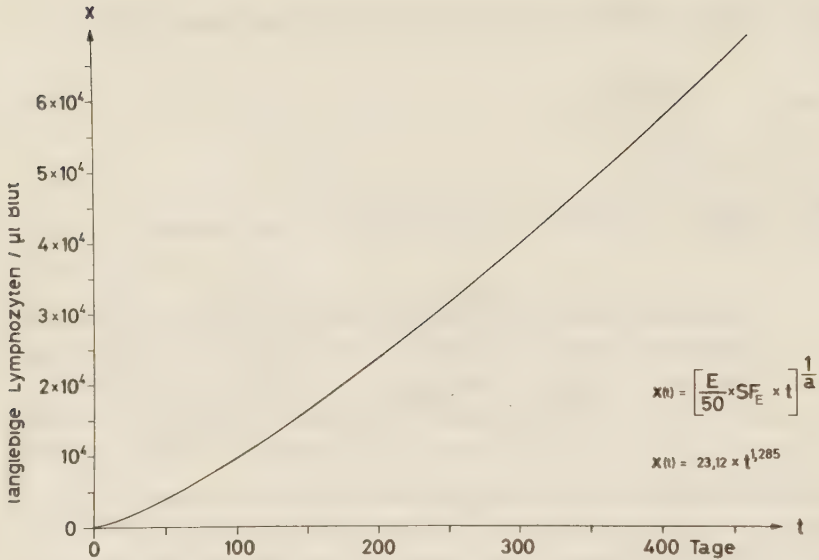


Abb. 15 Modell der zeitlichen Entwicklung der peripheren Lymphozytenzahl bei Patient MS im Blut unter Verwendung der von uns diskutierten Daten und Zusammenhänge (ohne kurzlebigen Anteil)

Diese Kurve stimmt in Art und Ausmaß mit der tatsächlich beobachteten Zunahme der peripheren Lymphozytenzahl (Abb. 1) bei Patient MS gut überein. Die zunehmende Lymphozytose bei diesem Patienten wird also vorwiegend durch die Ansammlung langlebiger Zellen im Blut bestimmt, der nicht lineare Verlauf kann durch die Änderung der Speicherrelationen gut erklärt werden. Mathematisch wäre bei uns die Zunahme durch die oben gezeigte Funktion beschrieben (VI._{MS}), eine Exponentialität des Anstiegs ist in diesem Fall auszuschließen. Dies gilt auch, wenn die gleichzeitige exponentielle Elimination von Zellen berücksichtigt wird:

$$\text{VII.) } x(t) = \left[\frac{E_{\text{Blut}}}{50} \cdot SF_E \cdot \frac{1}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right]^{1,285}$$

ZUSAMMENFASSUNG

Bei zwei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, deren Lymphozytenumsatz vor Therapie bestimmt worden war, wurde nach extrakorporaler Bestrahlung des Blutes bzw. kombinierter Cytostatica - Cortisonbehandlung und Milzbestrahlung eine erneute Untersuchung ihres Lymphozytenumsatzes durchgeführt. Im Anschluß daran erfolgte eine dritte Umsatzbestimmung in neunmonatigem Abstand bei dem Patienten, dessen Blut bestrahlt worden war. Alle von uns durchgeführten Versuche erfolgten mittels einer 24- stündigen Dauerinfusion von ^3H -Thymidin und nachfolgender autoradiographischer Auswertung von Blutproben.

An Hand unserer Ergebnisse konnte bei den untersuchten Patienten ein täglicher Einstrom neugebildeter Lymphozyten von 252 bis 780/ μl Blut gefunden werden. Der größte Teil dieser neugebildeten Lymphozyten (80 - 85 %) war kurzlebig und verließ das Blut mit einer Halbwertszeit von 2,9 bis 4,5 Tagen. Für diese kurzlebigen Lymphozyten errechnet sich also eine mittlere Lebensdauer von 4,18 bis 6,47 Tagen. Für die übrigen neugebildeten Lymphozyten muß eine sehr lange Lebensdauer angenommen werden, da sie nach unseren Befunden für die ständige Zunahme der Blutlymphozyten verantwortlich sind. Eine exakte Aussage über die Lebensdauer dieser langlebigen Lymphozyten ist aus den von uns berechneten "Umsatzzeiten" nicht möglich, da sich die neugebildeten Zellen dieser Gruppe nur zum Teil mit den im Blut vorhandenen umsetzen, im wesentlichen jedoch zu deren Vermehrung beitragen.

Die Mehrzahl der langlebigen Zellen gehört zur Klasse der kleinen und mittelgroßen Lymphozyten, während die kurzlebigen Zellen vorwiegend aus großen Lymphozyten bestehen. Dementsprechend sind die großen Lymphozyten

sehr stark am Gesamtumsatz beteiligt, ihre Anzahl im Blut tritt jedoch mit zunehmender Lymphozytose gegen die Masse der akkumulierenden kleinen und mittelgroßen Lymphozyten zurück. Dieser rasche Umsatz der großen Lymphozyten ist auch die Erklärung für die relative Vermehrung dieser Zellen im Blut nach depletierenden Maßnahmen.

Beim Vergleich der umsatzkinetischen Ergebnisse vor und nach Therapie werden bei sonst ähnlichen Befunden - wie Zusammensetzung der neugebildeten Zellen, Lebensdauer des kurzlebigen Anteils, Erscheinen der ersten neugebildeten Zellen - deutliche Unterschiede in der Größe der einzelnen Neubildungs- und Umsatzraten bei beiden Patienten gefunden. Wird die tägliche Neubildung jedoch auf den gesamten leicht austauschbaren Speicher, in dem sich die neugebildeten Lymphozyten tatsächlich verteilen, umgerechnet, so kommt man auf Grund der von MANASTER et al. (22) beschriebenen Abhängigkeit der Speichergröße von der peripheren Lymphozytenzahl zu folgenden Ergebnissen:

1. Bei dem Patienten, der mit einer extrakorporalen Bestrahlung des Blutes behandelt wurde, kann weder nach Therapie noch im Rezidiv eine sichtbare Änderung seiner Lymphozytenneubildung festgestellt werden. In den gesamten leicht austauschbaren Lymphozytenspeicher strömen bei diesem Patienten jeweils etwa 12×10^9 Lymphozyten pro Tag ein, davon sind ca. $2,3 \times 10^9$ langlebig.
2. Der zweite Patient zeigt nach Behandlung mit Cytostatica und Cortison und nachfolgender Bestrahlung der Milz einen deutlich reduzierten Einstrom neugebildeter Lymphozyten. Dies ist als therapieab-

hängige Verminderung der Lymphozytenproduktion anzusehen. Vor Therapie wurden bei diesem Patienten $12,4 \times 10^9$ Lymphozyten pro Tag gebildet, davon waren $1,8 \times 10^9$ langlebige Zellen, nach Therapie ist die Lymphozytenneubildung auf 6,1 bzw. $1,0 \times 10^9$ pro Tag um ca. 45 % vermindert.

Am Schluß dieser Arbeit wird versucht, ausgehend von den gewonnenen Befunden, die Zunahme der Lymphozytose bei einem der Patienten genauer zu analysieren und an Hand des bisher gültigen pathogenetischen Konzepts für die chronische lymphatische Leukämie zu überprüfen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ASTALDI, G. and GIRAUDO, L.C.: Elastic transformation in phythaemagglutinin cell culture of lymphocytes from lymphocytic leukemia and lymphomas. Arch. Biol. (Liège) 79: 653 - 671 (1968)
2. ASTALDI, G., SAULI, S., AIRO, R., RATTO, L. and COSTA, G.: Effect of phythaemagglutinin on lymphocytes from different leukemias. Texas Rep. Biol. Res. 23: 569 (1965)
3. BE SWAN LEE: Untersuchungen zur Bestimmung der Umsatzzeit und Neubildungsrate der Lymphozyten bei chronischer lymphatischer Leukämie. Inauguraldisertation München 1974
4. BEGEMANN, H., FINK, U., RASTETTER, J., TREPEL, F., WERNEKKE, G., CZEMPIEL, H. und PICHLMAIER, H.: Die Behandlung der chronischen lymphatischen Leukämie durch extrakorporale Blutbestrahlung. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75: 518 - 521 (1969)
5. BEGEMANN, H., LOOSE, W., TREPEL, F. und PICHLMAIER, H.: Behandlung der chronischen lymphatischen Leukämie durch extrakorporale Bestrahlung. Klin. Wschr. 46: 673 - 674 (1968)
6. BEGEMANN, H., THEML, H. und FINK, U.: Die Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie. In: Stacher, A. (Hrsg.): Leukämien und maligne Lymphome. München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1973
7. BEGEMANN, H., RASTETTER, J. und KABOTH, W.: Klinische Hämatologie. G. Thieme Verlag Stuttgart 1972

8. BIERMAN, H.R., BYRON, R.L. jr., KELLY, K.H., GILL-FILLAN, R.S., WHITE, L.P., FREEMAN, N.E., and PETRAKIS, N.L.: The characteristics of thoracic duct lymph in man. *J. Clin. Invest.* 32: 637 - 749 (1953)
9. BINET, J.L., LOGEALS, Y., VILLENEUVE, B., MATHEY, J. et BERNARD, J.: Examen de la lymphe au cours de la leucemie lymphoide chronique. *Nouv. Rev. Franç..Hémat.* 6: 568 (1966)
10. BREMER, K., und FLIEDNER, T.M.: Neuere Gesichtspunkte zur Kinetik von Lymphozytenpopulationen. In: Stacher, A. (Hrsg.): *Leukämien und maligne Lymphome*. München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1973
11. BREMER, K., FLIEDNER, T.M. and SCHICK, P.: Kinetic differences of autotransfused ^3H -cytidine labeled blood lymphocytes in leukemic and non-leukemic patients with malignant lymphomas. *Europ. J. Cancer* 9: 113 - 124 (1975)
12. BREMER, K., SCHICK, P., WACK, O., THEML, H., BRASS, B. und HEIMPEL, H.: Rezirkulation von Lymphozyten bei Patienten mit malignen lymphatischen Systemerkrankungen. *Blut* 24: 215 - 225 (1972)
13. DAMASHEK, W.: Chronic lymphocytic leukemia - an accumulative disease of immunologically incompetent lymphocytes. *Blood* 29: 566 - 584 (1967)
14. GREENBERG, M.L., CHANANA, A.D., CRONKITE, E.P., SCHIFFER, L.M., and STRYCKMANS, P.A.: Triated thymidine as an cytocidal agent in human leukemia. *Blood* 28: 851 - 859 (1966)

15. HAAS, R.J., BOHNE, F. und FLIEDNER, T.M.: Die Wirkung kontinuierlicher intrazellulärer Bestrahlung durch ^3H -Thymidin auf schwangere Ratten und auf die Entwicklung ihrer Nachkommenschaft. Strahlentherapie 139: 571 - 586 (1970)
16. HAAS, R.J. and FLIEDNER, T.M.: The effect of tritiated thymidine on the oocytes of foetal rats following maternal infusion in pregnancy. Int. J. Radiat. Biol., Vol. 9, No. 2: 197 - 200 (1971)
17. HAMILTON, L.D.: Nucleic acid turnover studies in human leukemic cells and the function of lymphocytes. Nature 178: 597 (1956)
18. HAMILTON, L.D.: Carbon¹⁴-labeling of DNA in studying hematopoietic cells. In: Stohlman, F. jr.: The kinetics of cellular proliferation. New York: Grune & Stratton 1959
19. HANSEN, M.M.: Chronic lymphocytic leukemia. Scand. J. Haemat. Suppl. 18, Munksgaard. Copenhagen 1973
20. HEININGER, H.J., FEINENDEGEN, L.E., and BÜRKI, K.: Reutilization of thymidine in various groups of rat bone marrow cells. Blood 37: 340 - 348 (1971)
21. JOHNSON, L.J., LOBUE, J., CHAN, P.C., MONETTE, F.C., RUBIN, A.D., GORDON, A.S., and DAMESHEK, W.: Autoradiographic studies of human lymphocytes cultured in vivo. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130: 675 - 679 (1969)
22. MANASTER, J., FRÜHLING, J., STRYCKMANS, P.: Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia. I. Equilibrium between blood and a "readily accessible pool". Blood 41: 425 - 437 (1973)

23. MARSHALL, W.H., VALENTINE, F.T., and LAWRENCE, H.S.: Cellular immunity in vitro. Clonal proliferation of antigen-stimulated lymphocytes. J. Exp. Med. 130: 327 - 342 (1969)
24. MATZNER, M.: Zur Kinetik lymphatischer Zellen bei Patienten mit malignen nicht lymphatischen Erkrankungen: Quantitative Charakterisierung von Lymphozytenspeichern und Migrationsströmen sowie Neubildung und Umsatz mit Hilfe autoradiographischer Untersuchungen. Inauguraldissertation, München 1976
25. SCHICK, P., THEML, H., KABOTH, W., CZEMPIEL, H., BEGEMANN, H., FLIEDNER, T.M., MAILLI, B., ZELLNER, J., BREMER, K. und BOCK, H.: Einflüsse von extrakorporaler Blutbestrahlung und Milzbestrahlung auf in vitro markierte und autotransfundierte Blutlymphozyten von CLL-Patienten. In: Stacher, A. (Hrsg.): Leukämien und maligne Lymphome. München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1973
26. SCHICK, P., TREPEL, F., and BEGEMANN, H.: On the fate of DNA synthesizing lymphoid blood cells in Hodgkins's disease. Scand. J. Haemat. 14: 17 - 23 (1975)
27. SCHICK, P., TREPEL, F., EDER, M., MATZNER, M., BENEDEK, S., THEML, H., KABOTH, W., BEGEMANN, H., and FLIEDNER, T.M.: Autotransfusion of ^3H -cytidine labelled blood lymphocytes in patients with Hodgkin's disease and Non-Hodgkin patients. II. Exchangeable lymphocyte pools. Acta Haemat. 53: 206 - 218 (1975)
28. SCHIFFER, L.M.: Kinetics of chronic lymphocytic leukemia. Ser. Haemat. 1: 3 - 23 (1968)

29. SMITH, H., MURRAY, D., and GÖKCEN, M.: Life cycle of lymphoid cells in vitro. *Europ. J. Cancer* 6: 269 - 271 (1970)
30. THEML, H., TREPEL, F., SCHICK, P., KAFOTH, W., and BEGEMANN, H.: Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia: Studies using continuous ^3H -thymidine infusion in two patients. *Flood* 42: 623 - 636 (1973)
31. TREPEL, F. und SCHICK, P.: Dynamik im lymphatischen Zellsystem. *Med. Klin.* 70: 581 - 590 (1975)
32. WAGNER, H.P. and ECKMANN, L.: Proliferative characteristics of thoracic duct lymphoid cells in man. XIIIth International Congress of Hematology, Munich, August 1970 (Abstract)
33. WILSON, J.D. and THOMSON, A.E.R.: Death and division of lymphocytes. Neglected factors in assessment of PHA-induced transformation. *Lancet* 1968/II, 1120 - 1123
34. ZIMMERMANN, T.S., GODWIN, H.A., and PERRY, S.: Studies of leukocyte kinetics in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 31: 277 (1968)

Ich danke Herrn Professor Dr. Begemann für die Überlassung dieser Arbeit und für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Hämatologischen Labors seiner Abteilung zu benutzen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Schick für die Unterstützung bei der technischen Durchführung.

Durch die zahlreichen Gespräche, die ich mit ihm führen konnte, wurde mir die Einarbeitung in die Thematik wesentlich erleichtert.

LEBENS LAUF

Name:	Hans Z ö l l n e r	
Geboren:	13. Juni 1945	
Geburtsort:	München	
Vater:	Hans Zöllner, München	
Mutter:	Ida Zöllner, geb. Klopff	
Schulbildung:	1951 - 57	6 Klassen Volksschule München
	1957 - 60	3 Klassen Aufbauzug an Volksschulen
	1960 - 63	Städt. Berufsschule für Maschinenschlosser
	1961 - 64	Städt. Berufsaufbauschule in München
	1964 - 67	Münchenkolleg
Prüfungen:	1963	Facharbeiterprüfung für Maschinenbau
	1964	Abschlußprüfung an der Berufsaufbauschule (entspr. Mittlere Reife)
	1967	Reifeprüfung
Wehrdienst:	1967 - 68	
Studiengang:	1968/69	Wi.-Sem. Allgemeine Natur- wissenschaften
	1969	So.-Sem.: Beginn des medi- zinischen Studiums an der Universität München
	1970 April	Naturwiss. Vorprüfung
	1971 Okt.	Ärztliche Vorprüfung
	1975 24.6.	Ärztliche Prüfung an der Universität München

